

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA, SALUD PÚBLICA E
HISTORIA DE LA CIENCIA



TESIS DOCTORAL

**Leche enriquecida con esteroides vegetales en pacientes
pediátricos con hipercolesterolemia.
Ensayo clínico doble ciego, controlado y aleatorizado**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Javier Andrés Blumenfeld Olivares

DIRECTORAS

María Elisa Calle Purón
Cornelia Bischofberger Valdés

Madrid, 2018

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina Preventiva, Salud Pública e Historia
de la Ciencia



**LECHE ENRIQUECIDA CON ESTEROLES VEGETALES EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS CON HIPERCOLESTEROLEMIA. ENSAYO CLÍNICO
DOBLE CIEGO, CONTROLADO Y ALEATORIZADO**

Autor

Javier Andrés Blumenfeld Olivares

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina Preventiva, Salud Pública e Historia
de la Ciencia

Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas



**LECHE ENRIQUECIDA CON ESTEROLES VEGETALES EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS CON HIPERCOLESTEROLEMIA. ENSAYO CLÍNICO
DOBLE CIEGO, CONTROLADO Y ALEATORIZADO**

TESIS DOCTORAL

Autor

Javier Andrés Blumenfeld Olivares

Directores

María Elisa Calle Purón y Cornelia María Bischofberger Valdés

Madrid, 2017

Que el maquillaje no apague tu risa,
que el equipaje no lastre tus alas,
que el calendario no venga con prisas,
que el diccionario detenga las balas,

Que las persianas corrijan la aurora,
que gane el quiero la guerra del puedo,
que los que esperan no cuenten las horas,
que los que matan se mueran de miedo.

Que el fin del mundo te pille bailando,
que el escenario me tiña las canas,
que nunca sepas ni cómo, ni cuándo,
ni ciento volando, ni ayer ni mañana

Que el corazón no se pase de moda,
que los otoños te doren la piel,
que cada noche sea noche de bodas,
que no se ponga la luna de miel...

Que las verdades no tengan complejos,
que las mentiras parezcan mentira,
que no te den la razón los espejos,
que te aproveche mirar lo que miras.

Que no se ocupe de ti el desamparo,
que cada cena sea tu última cena,
que ser valiente no salga tan caro,
que ser cobarde no valga la pena.

Que no te compren por menos de nada,
que no te vendan amor sin espinas,
que no te duerman con cuentos de hadas,
que no te cierren el bar de la esquina.

Que todas las noches sean noches de boda,
que todas las lunas sean lunas de miel.

"Noche de bodas" de Joaquín Sabina

***Gracias Eva, por convertir mis noches, en noches de bodas; por hacer de
mis lunas, lunas de miel.....***

Somos pocos los que vamos
buscando el silencio
entre los adoradores de tronadas.
Los que contenemos el aire que precede
a la tormenta.
Los que llovemos por dentro
y olemos siempre a aguacero por venir.

"Seres de Ozono" de Emilia Conejo

***Gracias a mis padres, esos seres de ozono, por estar, por acompañar, por
jugar al Buraco hasta las tres de la mañana mientras estudiaba para
selectividad.....***

ÍNDICE

1. Resumen / summary.....	11 - 16
2. Introducción.....	17 - 48
2.1. La enfermedad cardiovascular.....	17
2.2. Etiopatogenia de la enfermedad cardiovascular.....	17
2.3. Epidemiología de la enfermedad cardiovascular.....	20
2.4. Factores de riesgo de la enfermedad cardiovascular.....	20
2.5. Lípidos y lipoproteínas.....	21
2.6. Causas primarias de dislipemia.....	25
2.7. Aproximación al paciente con dislipemia.....	27
2.8. Diagnóstico de la dislipemia.....	29
2.9. Hipercolesterolemia durante la infancia.....	29
2.10. Esteroles vegetales.....	35
2.11. Esteroles vegetales como agentes hipolipemiantes.....	37
2.12. Esteroles vegetales en el tratamiento de las dislipemias.....	38
2.13. ¿Se inicia la aterosclerosis durante la infancia?.....	40
2.14. ¿Cómo medir la aterosclerosis en la infancia?.....	43
2.15. ¿Es necesario intervenir la dislipemia durante la infancia?.....	45
2.16. Variabilidad en la respuesta a esteroles vegetales.....	46
2.17. Justificación del estudio.....	47
3. Hipótesis del estudio.....	49
4. Objetivos del estudio.....	51
5. Material y métodos.....	53 - 64
5.1. Diseño del estudio.....	53
5.2. Población, ámbito y periodo de estudio.....	53
5.3. Criterios de inclusión y de exclusión.....	54
5.4. Descripción de la intervención.....	55
5.5. Variables y factores de estudio.....	59
5.6. Tamaño muestral.....	60
5.7. Análisis clínico.....	60
5.8. Análisis genético.....	60
5.9. Análisis estadístico.....	62
5.10. Bioética del estudio.....	63

6. Resultados.....	65 - 96
6.1. Datos iniciales de la cohorte de pacientes.....	65 - 73
6.1.1. Edad, género y datos antropométricos.....	65
6.1.2. Perfil lipídico antes del estudio.....	67
6.1.3. Datos de sueño y ejercicio.....	68
6.1.4. Datos sobre hábitos de alimentación.....	70
6.2. Comparación del grupo tratamiento y del grupo placebo.....	74 - 80
6.2.1. Edad género y datos antropométricos.....	74
6.2.2. Datos de sueño y ejercicio.....	76
6.2.3. Datos de hábitos nutricionales.....	77
6.2.4. Datos iniciales de niveles de lípidos sanguíneos en ambos grupos.....	80
6.3. Datos comparativos de lípidos sanguíneos tras ingesta de lácteos con esteroides vegetales y lácteos sin esteroides vegetales.....	81
6.4. Datos del estudio genético.....	86
7. Discusión.....	97 - 114
7.1. Esteroides vegetales como agentes hipolipemiantes.....	97 - 106
7.2. Variabilidad de respuesta a esteroides vegetales según variantes genéticas.....	107
7.2.1. Gen Apolipoproteína A5.....	108
7.2.2. Gen LIPC C-514T.....	109
7.2.3. Gen PPAR-alpha L162V.....	110
7.2.4. Gen APOE Haplotipo APOE 2/3/4.....	111
8. Conclusiones.....	113
9. Bibliografía	

1.1 RESUMEN

La dislipemia es un reconocido factor de riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV).

Objetivos:

Determinar la eficacia de leche desnatada enriquecida con fitoesteroles para reducir los niveles de lipoproteínas aterogénicas en población pediátrica, por otra parte otro objetivo del estudio es analizar la influencia de diferentes polimorfismos genéticos en la respuesta a la leche enriquecida con los esteroides vegetales.

Material y métodos:

Ensayo clínico controlado, randomizado y doble ciego. Se administra leche desnatada enriquecida con esteroides vegetales. Los pacientes consumieron 700 ml de leche al día, lo cual contiene 2.24 g de esteroides vegetales al día durante 8 semanas. El grupo control consumió leche desnatada. Se incluyeron 67 pacientes pediátricos con edades comprendidas entre 5 y 12 años.

A todos los participantes de este estudio que estuvieron en el grupo de tratamiento con esteroides vegetales se les ofreció participar en la segunda fase del estudio que incluía un estudio genético, en esta segunda fase del estudio participaron un total de 26 pacientes.

Investigamos el impacto en el colesterol total, LDL, HDL, colesterol no HDL y triglicéridos del consumo de esteroides vegetales y su relación con los genes APOA5 C56G ser19trp (*rs3135506*) (haplotipos CC, CG y GG) , Prothrombin G20210A

(*rs1799963*) (haplotipos GG, GA y AA), F5 arg506gln (*rs6025*) (haplotipos GG, GA y AA), MTHFR C677T (*rs 1801133*) (haplotipos CC, CT y TT), LIPC C-514T (*rs 1800588*) (haplotipos CC, CT y TT), LPA I4399M (*rs3798220*) (haplotipos TT,TC y CC), PPAR-alpha L162V (*rs1800206*) (haplotipos CC, CG y GG). APOA5 – 1131T>C (*rs662799*)(haplotipos TT, TC y CC), APOE haplotipos APOE2/3/4 (*rs429358*) (haplotypes TT, TC y CC) y en ese mismo gen el (*rs7412*)(haplotipos TT, TC y CC). Todos estos genes están implicados en enfermedades cardiovasculares.

Resultados:

La media (y desviación típica) del valor basal de lipoproteínas fue de Colesterol total 201.33 (31) mg/dl, colesterol LDL 131.51 (29) mg/dl, colesterol HDL 54.4 (11) mg/dl, colesterol no HDL 146.1 (39) mg/dl y triglicéridos 76.45 (49) mg/dl. Tras la ingesta de esteroides vegetales se observan diferencias estadísticamente significativas entre los que han consumido esteroides vegetales y placebo en la disminución del colesterol total, colesterol LDL y colesterol no HDL, no encontrando diferencias estadísticamente significativas en los niveles de colesterol HDL y triglicéridos.

La media del descenso del colesterol total tras la ingesta de esteroides vegetales fue de 11.08% (95% CI, 6.88% a 15.28%. P = 0.007). El LDL colesterol tuvo un descenso medio de 18.29% (95% CI, 10.01% a 26.56%. P = 0.003).El colesterol no HDL tuvo un descenso medio 14% (95% CI, 8.90% a 19.62%. P =0.014).

En los pacientes del grupo tratamiento no se produjeron efectos secundarios de ningún tipo.

Respecto al gen PPAR-alpha L162V. Los que tienen la variante CC homocigota bajaron el LDL mas que los portadores de la variante CG heterocigota, tras la ingestión de esteroides vegetales ($p = 0.004$). Los portadores CG heterocigota tuvieron mas elevación de HDL de forma significativa que los portadores CC homocigota tras la ingestión de esteroides vegetales ($p = 0.023$) y los portadores CG heterocigota disminuyeron su nivel medio de triglicéridos mas que los portadores del CC homocigoto de forma significativa tras la ingestión de esteroides vegetales ($p = 0.001$).

Los portadores de la variante CC del rs1800588 del Gen LIPC C-514T presentan una respuesta a esteroides con un aumento medio de 14% en el colesterol LDL, presentando una disminución de 24% en la variedad CT y 36% en la variedad TT.

Los portadores de la variante GG del gen APOA5 C56G Ser19Trp disminuyeron su nivel de triglicéridos más que los portadores de la variante CG del mismo gen ($p = 0.001$).

Respecto al gen APOE Haplotipo APOE2/3/4, en la variante rs429358 los portadores de la variante heterocigota TC disminuyeron sus triglicéridos de forma significativa mas que los portadores homocigotos CC ($p = 0.003$), por último en la variante rs7412 se produjo una disminución mayor de los triglicéridos tras la ingesta de esteroides de los homocigotos CC que los heterocigotos TC.

Conclusiones:

Los esteroides vegetales son una buena herramienta para tratar la hipercolesterolemia en la infancia. Existen genes como el PPAR-alpha L162V, APOA5 C56G ser19trp, APOE haplotipo APOE2/3/4 cuyas variantes influyen en la respuesta a tratamiento con esteroides vegetales.

1.2 SUMMARY

Dyslipidemia is a recognized cardiovascular risk factor.

Objectives:

To determine the efficacy of phytosterols enriched milk for reducing lipid levels in child population, in addition other objective is to analyze the influence of different polymorphisms in hypercholesterolemia patients following a treatment with plant sterols.

Methods:

Controlled, randomized, double-blind clinical trial. A sterol rich commercial milk was used. Subjects consumed daily 700 ml of milk which represents an amount of 2.24 g of sterols per day for eight weeks. The control group consumed skimmed milk. 67 pediatric patients included were in age between 5 and 12 years old.

All participants of this first study who consumed the treatment milk and who agree to continue with the genetic variability study and whose parents or legal guardian accepted to sign up the informed consent has participated in the second branch of the study, a total of 26 patient.

We investigate the impact in total Cholesterol, LDL, HDL, Cholesterol non HDL and TG responsiveness to Plant sterol consumption of SNPs of the genes: APOA5 C56G ser19trp (*rs3135506*) (haplotypes CC, CG and GG) , Prothrombin G20210A (*rs1799963*) (haplotypes GG, GA and AA), F5 arg506gln (*rs6025*) (haplotypes GG, GA

and AA), MTHFR C677T (*rs 1801133*) (haplotypes CC, CT and TT), LIPC C-514T (*rs 1800588*) (haplotypes CC, CT and TT), LPA I4399M (*rs3798220*) (haplotypes TT,TC and CC), PPAR-alpha L162V (*rs1800206*) (haplotypes CC, CG and GG). APOA5 – 1131T>C (*rs662799*)(haplotypes TT, TC and CC), APOE haplotype APOE2/3/4 (*rs429358*) (haplotypes TT, TC and CC) and APOE haplotype APOE 2,3,4 (*rs7412*)(haplotypeTT, TC and CC). All of this genes are implicated in risk of cardiovascular disease.

Results: The mean (and standard deviation) value of baseline total cholesterol levels was 201.33 (31) mg / dl, LDL basal levels 131.51 (29) mg / dl, HDL levels 54.4 (11) mg / dl, triglycerides baseline 76.45 (49) mg / dl no HDL Cholesterol 146.1 (39) mg / dl. After intake, it was observed significant differences between milk enriched with sterols and placebo in lowering total cholesterol, LDL cholesterol and non-HDL cholesterol, with HDL levels remaining practically unchanged. The mean total cholesterol decreased after use of milk enriched with sterols was 11.08% (95% CI, 6.88% to 15.28%. P = 0.007). LDL cholesterol has an mean decrease of 18.29% (95% CI, 10.01% to 26.56%. P = 0.003). Non-HDL cholesterol fell by 14% on average (95% CI, 8.90% to 19.62%. P =0.014). No side effects has presented during the course of treatment.

Hyper-responders of Gene LIPC C-514T carriers greatly benefit from sterols intake in the diet. TT homozygous carriers lowered their LDL-c more than CC homozygote and CT heterozygote carriers, after ingestion of plant sterols (p = 0.001).

Hyper-responders of Gene PPAR-alpha L162V carriers greatly benefit from sterols intake in the diet. CC homozygous carriers lowered their LDL-c more than CG heterozygote carriers, after ingestion of plant sterols (p = 0.004). CG heterozygote

carriers elevated their HDL more than CC homozygous carriers, after ingestion of plant sterols ($p = 0.023$) and CG heterozygote carriers lowered their TG more than CC homozygous carriers, after ingestion of plant sterols ($p = 0.001$).

Hyper-responders of Gene APOA5 C56G Ser19Trp carriers greatly benefit from sterols intake in the diet. GG homozygous carriers lowered their TG more than CG heterozygote carriers, after ingestion of plant sterols ($p = 0.001$).

Hyper-responders of Gene APOE Haplotipo APOE2/3/4 carriers also greatly benefit from sterols intake in the diet. In rs429358 variant, TC heterozygote carriers lowered their TG more than CC homozygous carriers, after ingestion of plant sterols ($p = 0.003$) and in rs7412 variant CC homozygous carriers lowered their TG more than TC heterozygote carriers ($p = 0.003$).

No statistically significant differences were observed for other genes.

Conclusions: We conclude that milk enriched with plant sterols is an effective way to lower LDL cholesterol and non-HDL cholesterol (both atherogenic cholesterol levels) in pediatric patients with hyperlipidemia and there is an influence of different polymorphisms in hypercholesterolemia in variability of response in patients following a dietary treatment with plant sterols.

2.- INTRODUCCIÓN

2.1.- LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La enfermedad cardiovascular (ECV) por aterosclerosis es una patología común en la población general, la aterosclerosis, con o sin manifestaciones clínicas afecta a gran parte de los adultos, en mayor o menor medida, de más de sesenta años. Esta patología incluye cuatro tipos.

1. La cardiopatía isquémica coronaria que se manifiesta por infarto de miocardio (fatal, o no fatal), la angina de pecho y/o el fallo cardíaco.
2. La enfermedad cerebrovascular que se manifiesta por infartos cerebrales (fatales o no fatales) y accidentes isquémicos transitorios.
3. La arteriopatía periférica que se manifiesta con claudicación intermitente y/o isquemia de miembros.
4. Aterosclerosis aórtica que se manifiesta con aneurismas aórticos.

La cardiopatía isquémica es la manifestación más común de la ECV, representa aproximadamente un 50% de los primeros eventos de enfermedades cardiovasculares (1).

2.2.- ETIOPATOGENIA DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La ECV se produce debido a la formación de placas de ateroma en las arterias, este proceso se denomina aterosclerosis, se inicia en la infancia y se va agravando con el paso del tiempo hasta producir, en algunos casos, la ECV.

La primera fase de la aterosclerosis, que se inicia en varias ocasiones durante la infancia, se llama estría lipídica y ocurre histológicamente como un engrosamiento de

la capa íntima de las arterias, en este engrosamiento se acumulan células espumosas que en definitiva son macrófagos que han fagocitado lípidos, mezclados con elementos de la matriz extracelular, lípidos extracelulares y en ocasiones células musculares lisas. Esta estría lipídica va aumentando de tamaño, la arteria reacciona a esta placa produciendo una fibrosis alrededor de esta estría, esta reacción inflamatoria y de acumulación de lípidos se perpetúa hasta convertirse en la placa de ateroma (1).

Estas placas de ateroma acaban dañando tanto mecánicamente como funcionalmente, el endotelio vascular alterando por lo tanto la capacidad mitógena, vasomotriz, fibrinolítica y antitrombótica de dicho endotelio, generando además un obstáculo mecánico al paso de la sangre (1).

En la patogénesis de la placa de ateroma participan varios elementos.

La disfunción endotelial es un factor nuclear en esta patología, el endotelio separa los tejidos subendoteliales, potencialmente trombogénicos, y la sangre.

Otros agentes responsables de la formación de la placa de ateroma son los factores de inflamación local como las moléculas (MCP)-1, GM-CSF, IL-1, IL-3, IL-6, IL-18 y otras proteínas proinflamatorias, asimismo se ha implicado al TNF alfa como factor coadyuvante en la patogénesis de la placa de ateroma. Así mismo se han encontrado relaciones entre algunos agentes infecciosos y la formación de placas de ateroma (1).

Otras enfermedades como la hipertensión arterial, la diabetes y el tabaco se han relacionado directamente con la formación de placas de ateroma.

Por último las alteraciones de los lípidos sanguíneos son actores clave en la formación de la placa de ateroma. Experimentos en animales demostraron la relación directa

entre una dieta rica en colesterol y la formación acelerada de la placa de ateroma.

Estudios posteriores demostraron el aumento de prevalencia de aterosclerosis en personas con hipercolesterolemia.

Por lo tanto los niveles elevados de las Lipoproteínas de baja densidad (LDL) son un importante factor de riesgo cardiovascular, el LDL se acumula en los macrófagos, convirtiéndolas en células espumosas, estas finalmente son el causante inicial de la formación de la estría lipídica en el endotelio arterial, primer paso en la formación de la placa de ateroma. Además la oxidación de estos acúmulos de LDL aumentan la capacidad proinflamatoria del LDL en el endotelio vascular.

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) sin embargo tiene unas propiedades antiaterogénicas que incluyen un transporte reverso de colesterol desde la placa lipídica al hígado. Existe una relación inversa entre los niveles de HDL y el riesgo cardiovascular. Desgraciadamente actualmente no se ha conseguido demostrar que una elevación farmacológica del HDL disminuya el riesgo cardiovascular (1).

En revisiones recientes se ha planteado la posibilidad de que los triglicéridos sean considerados como factores independientes de riesgo cardiovascular. La posible causalidad de los triglicéridos sanguíneos en la formación de la placa de ateroma tiene más que ver con la alta concentración de triglicéridos en el colesterol residual o remanente (lipoproteínas ricas en triglicéridos) que con otras proteínas como los quilomicrones, ya que las moléculas de colesterol remanente pueden entrar en la íntima de los vasos sanguíneos. La liberación dentro de la íntima de ácidos grasos libres, monoacilgliceroles y otras moléculas puede causar inflamación local (2).

2.3.- EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Actualmente la enfermedad cardiovascular es la causa más frecuente de mortalidad a nivel mundial, 29.6% de la mortalidad total del planeta se debe a enfermedades cardiovasculares. En Europa la enfermedad cardiovascular es la responsable de la mortalidad del 45 % de las personas en el momento actual. Muriendo cada año más de cuatro millones de europeos de enfermedad cardiovascular. Estos datos coinciden con la de otras regiones industrializadas (3).

Por otra parte a pesar del aumento progresivo de la prevalencia de ECV en países industrializados la tasa de mortalidad respecto al total de eventos cardiovasculares ha disminuido en estos países (3).

2.4.- FACTORES DE RIESGO DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Existen multitud de factores de riesgo de la ECV y por lo tanto de enfermedad coronaria, sin embargo hasta un 90% riesgo atribuido a estas enfermedades se produce por factores de riesgo modificables: el tabaco, la dislipemia, la hipertensión arterial, la diabetes, la obesidad abdominal, los factores psicosociales, el consumo diario de frutas y verduras, el alcohol y la actividad física regular (4).

Los 5 factores de riesgo con más peso, responsables de más de la mitad de los eventos cardiovasculares son la dislipemia, la hipertensión arterial, la obesidad, la diabetes y el tabaco (5).

Hoy tenemos suficientes evidencias para afirmar que el proceso de formación de placas de ateroma se inicia en la infancia, este proceso se ve intensificado, incluso en la infancia por los factores de riesgo cardiovasculares ya conocidos. Las autopsias

realizadas a los jóvenes soldados fallecidos en las guerras de Corea y Vietnam, así como los estudios longitudinales PDAY y Bogalusa demostraron la existencia de estrías lipídicas ya en la infancia. Existiendo una relación directa entre el tamaño de estas estrías y los factores de riesgo cardiovascular. Por otra parte existe evidencia suficiente para afirmar que los factores de riesgo cardiovasculares que están presentes durante la infancia suelen estar presentes en un alto porcentaje también en la edad adulta, por lo tanto tener estos factores de riesgo durante la infancia no sólo inicia la producción de un daño endotelial, y por lo tanto la placa de ateroma, además aumenta el riesgo de seguir padeciendo estos factores de riesgo cardiovasculares (6).

En definitiva la prevención primaria de la ECV se debe iniciar en la edad pediátrica y somos por lo tanto los pediatras los responsables de instaurar esta prevención primaria de ECV en la infancia (6).

Uno de los factores de riesgo de ECV más estudiados y conocidos es la dislipemia.

2.5.- LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS

Los lípidos, dentro de los que se incluyen el colesterol y sus subtipos y los triglicéridos son moléculas orgánicas insolubles en agua, por lo tanto su transporte dentro del torrente sanguíneo y celular se debe realizar en conjunción con otras moléculas, generalmente proteínas, formando las lipoproteínas, siendo estas últimas solubles en agua. En definitiva las lipoproteínas son moléculas complejas cuya parte central se compone, en diferentes concentraciones, según la lipoproteína, de ésteres de colesterol y triglicéridos, y cuya parte más superficial está compuesta por apolipoproteínas y fosfolípidos (7).

Las funciones de las apolipoproteínas dentro de las lipoproteínas son estructurales, algunas son ligandos de receptores de lipoproteínas, activadores e inhibidores de enzimas relacionadas con el metabolismo de estas moléculas y dirigir los procesos de formación de las lipoproteínas (7).

Según su composición lipídica y proteica la lipoproteínas se pueden clasificar en quilomicrones, quilomicrones remanentes, Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL) y lipoproteína a (Lp a).

El organismo consigue estos lípidos por dos vías, la exógena y la endógena.

Vía exógena:

Esta vía se inicia en el intestino, los alimentos ingeridos son separados mediante enzimas intestinales, los lípidos contenidos en los alimentos (triglicéridos, colesterol, fitoesteroles y vitaminas liposolubles) se mezclan con los lípidos excretados al duodeno por la vesícula biliar (colesterol y ácidos biliares) y conjuntamente forman micelios. Estos micelios son reconocidos por la proteína transportadora NPC1L1 (Niemann-Pick C1-like 1) de la superficie del enterocito que realiza el transporte al interior de la célula.

Una vez dentro del enterocito los esteroides vegetales y el colesterol se transportan de nuevo a la luz intestinal por la proteína transportadora ABCG5 y ABCG8 (las proteínas transportadoras ABCG5/ABCG8 forman un heterodímero y se expresan en células hepáticas e intestinales), o se convierten en ésteres de colesterol y esteroides vegetales por la enzima ACAT (acil coenzima A:colesterol aciltransferasa). Esta última acción es

mucho menos eficiente con esteroides vegetales por lo que gran parte de los esteroides vegetales se transportan nuevamente a la luz intestinal por la proteína transportadora ABCG5 y ABCG8. En definitiva se absorben aproximadamente el 50% del colesterol y el 5% de los esteroides vegetales que se encuentran en el lumen intestinal. Las vías de absorción de los ácidos grasos libres y los monoacilglicéridos no son aún bien conocidas (7).

En definitiva dentro del enterocito se inicia la síntesis de triglicéridos gracias a las enzimas MGAT (monoglicérido acil transferasa) y DGAT (diglicérido acil transferasa), que usan como sustratos monoacilglicérido y diacilgliceridos y ácidos grasos libres.

Los ésteres de colesterol y los triglicéridos intracelulares forman el núcleo de los quilomicrones (su capa externa está formada por lipoproteínas, sobre todo la Apo B-48). Estos quilomicrones son secretados a los conductos linfáticos y pasan, a través del conducto torácico, a la circulación (7).

En los tejidos musculares y adiposo se expresan una gran densidad de LPL (lipoproteína lipasa), al entrar en contacto esta enzima con los quilomicrones se liberan ácidos grasos libres a la circulación, estos ácidos son captados por las células adiposas y musculares. Según van perdiendo los quilomicrones triglicéridos se convierten en quilomicrones remanentes. Por otra parte va aumentando la densidad de la lipoproteína Apo E en su superficie. Estos quilomicrones remanentes son captados por los hepatocitos gracias a los receptores hepáticos de Apo E (7).

Por lo tanto esta vía se inicia en el lumen intestinal y finaliza en el hepatocito.

Vía endógena:

El hepatocito es capaz de sintetizar de forma autónoma colesterol, una de las enzimas responsables de esta síntesis es la enzima HMG-CoA reductasa cuyo sustrato inicial es la Acetil Coenzima A. las estatinas, fármacos hipolipemiantes, actúan inhibiendo la acción de la HMG-CoA reductasa.

Dentro del hepatocito los ésteres de colesterol y los triglicéridos se unen a la Apo B-100, formando las VLDL. El hígado secreta esta lipoproteína a la sangre. En los tejidos endoteliales ricos en LPL se produce el mismo proceso que con los quilomicrones, soltando el VLDL los triglicéridos y los ácidos grasos a las células. La pérdida de triglicéridos y ácidos grasos por parte de la VLDL las convierte en IDL. Al igual que en el caso de los quilomicrones va aumentando la densidad de ApoE en su superficie. Estas moléculas de IDL son captadas nuevamente por el hepatocito al ser reconocido la ApoE que contiene el IDL (7).

El hígado también es el responsable de la producción de LDL colesterol, la capacidad de síntesis de esta lipoproteína depende de la cantidad de receptores de LDL del hepatocito, y esto está a la vez regulado por la producción interna de LDL y la captación externa de LDL e IDL.

Una disminución en el colesterol celular activa la transcripción del receptor LDL y de la enzima HMG-CoA reductasa (responsable de la síntesis intracelular de colesterol) por parte del núcleo del hepatocito.

La lipasa hepática, la lipasa endotelial, la Lecitina:colesterol acetiltransferasa (LCAT), la proteína de transferencia colesteril ester (CETP) son enzimas que participan también en la homeostasis del colesterol y los triglicéridos corporales.

Por último el receptor de LDL es degradado por la enzima PCSK9 en el hepatocito.

Metabolismo del HDL

La lipoproteína HDL se sintetiza en el hepatocito y en el enterocito. La principal proteína estructural del HDL es la Apo A-I. El transporte desde el interior de la célula del colesterol hacia la HDL se produce a través de la proteína transportadora ABCA1. EL HDL también se llena de colesterol y fosfolípidos degradados de los quilomicrones y VLDL mediante la LPL. Esta partícula libera los lípidos que contiene en el hepatocito y vuelve de nuevo a la circulación sanguínea (7).

Existen algunas alteraciones conocidas en el metabolismo del colesterol que pueden producir importantes alteraciones de los lípidos sanguíneos. Por otra parte en ocasiones se produce una elevación de las lipoproteínas aterogénicas por causas secundarias.

2. 6.- CAUSAS PRIMARIAS DE DISLIPEMIAS:

Hipercolesterolemia familiar.

Se caracteriza por tener niveles elevados de LDL colesterol desde la infancia, en la edad adulta estos pacientes tienen riesgo más elevado de tener ECV. La fisiopatología de esta enfermedad se produce por un defecto en el gen que codifica las proteínas del receptor del Apo B/E (del LDL). Este defecto disminuye la adherencia de este receptor,

responsable de meter el LDL dentro de las células, por lo que aumenta las cantidades sanguíneas de LDL (8).

Este mismo fenotipo de los lípidos sanguíneos se produce también en las mutaciones de los genes que codifican las proteínas PCSK9 (responsable de degradar el receptor de LDL) y la proteína Apo B-100 (8).

Esta condición es autosómica dominante, siendo gran parte de los afectados heterocigotos. La prevalencia es de aproximadamente 1 de cada 200 a 500 personas. La afectación homocigótica es mucho menos frecuente, y mucho más grave (8,9).

Hiperlipidemia familiar combinada.

Afección con una prevalencia de entre 1-2 % de la población general, responsable de entre un tercio y la mitad de los infartos de miocardio (10,11). La hiperlipidemia familiar combinada se produce por una combinación entre factores genéticos y ambientales, generalmente la causa es una sobreproducción de la proteína Apo B-100 asociada a VLDL, el resultado final es un aumento de las lipoproteínas aterogénicas y una disminución del HDL (8).

Hipercolesterolemia poligénica.

En esta enfermedad existe una elevación de las lipoproteínas aterogénicas, y agregación familiar, sin embargo parece que en esta enfermedad están implicados varios genes, cuya acción combinada produce esta elevación de lipoproteínas (8).

2.7.- APROXIMACIÓN AL PACIENTE CON DISLIPEMIA

Por las implicaciones vistas anteriormente los pacientes con ECV conocida deberán mantener unos niveles bajos adecuados de lípidos sanguíneos, ya que esto disminuye la posibilidad de tener un nuevo evento cardiovascular. Asimismo pacientes que presentan un riesgo de ECV a 10 años mayor de 20%, aunque no hayan tenido manifestación de su ECV deben mantener los niveles de lípidos sanguíneos en umbrales adecuados ya que de esa manera disminuyen la probabilidad de sufrir una manifestación de ECV. Estas dos acciones son de prevención secundaria y terciaria de la ECV (10,12).

Por otra parte es importante plantear que actitud tomar en la prevención primaria, tanto en la edad adulta como en la infancia. Todas las guías de práctica clínica coinciden en la importancia del establecimiento de hábitos de vida saludables, tanto en la infancia como en la edad adulta, como medida efectiva de prevención primaria de ECV. Estos hábitos son el mantenimiento de una dieta cardiosaludable, realización regular de ejercicio físico, eliminación del tabaco y mantenimiento de un peso adecuado. Estos hábitos inciden de forma directa en otros factores de riesgo cardiovascular, como la hipertensión arterial, la dislipemia y la diabetes, y en ocasiones son factores de riesgo independientes de ECV (6,9).

Las ventajas de incidir en los hábitos de vida como método de prevención primaria de ECV es la ausencia de efectos secundarios, y por otra parte los hábitos saludables de vida también constituyen un método de prevención primaria de otras enfermedades prevalentes como algunos tipos de tumores.

Los hábitos saludables de vida deben ser realizados por todos los pacientes con dislipemia, independientemente de la necesidad de tratamiento farmacológico.

Existen sustancias contenidas en algunos alimentos que han demostrado eficacia en la disminución de las lipoproteínas aterogénicas tales como los ácidos omega 3 que contienen en grandes cantidades los pescados azules; el arroz rojo fermentado, producto usado en la cocina china, ha demostrado producir una disminución importante de los niveles de LDL sanguíneos, sin afectar los niveles de HDL, esta propiedad se debe seguramente a la presencia de una sustancia denominada monoacolina K, que es la sustancia activa en el inhibidor comercial de HMGCoA reductasa, la lovastatina, sin embargo debido a la falta de regulación de arroz fermentado rojo como medicamento existe en el mercado una gran diferencia de concentración ésta sustancia hipolipemiente entre diferentes marcas comerciales de arroz. Las nueces, almendras, avellanas y pistachos han demostrado una disminución de eventos cardiovasculares en personas que las consumen regularmente, así como disminución de los niveles de LDL colesterol. Existen muchas fibras de origen alimentario que disminuyen los niveles de LDL circulantes, asimismo las dietas que contienen un porcentaje más alto de fibra alimentaria, como la dieta mediterránea han demostrado ser más cardiosaludables (10).

Por último en varios estudios se ha demostrado que la dieta mediterránea, que consiste en consumo elevado de frutas, verduras, cereales, legumbres, lácteos y pescado y consumo de carnes rojas y alimentos elaborados de forma más ocasional, usando el aceite de oliva como grasa principal disminuye de forma significativa los niveles de colesterol LDL y disminuye el riesgo de enfermedad cardiovascular (10).

En definitiva como hemos visto, las alteraciones lipídicas constituyen uno de los mayores factores de riesgo cardiovascular, por lo tanto la dislipemia constituye una condición de importante aumento de riesgo cardiovascular, sin embargo no se debe considerar la dislipemia como un factor único, sino como uno de los factores de riesgo cardiovascular y por lo tanto la decisión de tratarlo en el adulto debe depender de una combinación de factores de riesgo. Por lo tanto en el tratamiento de la dislipemia debemos incidir en el tratamiento del resto de los factores de riesgo cardiovasculares (tabaco, obesidad, nutrición, HTA y ejercicio físico) (9,10,11).

2.8.- DIAGNÓSTICO DE LA DISLIPEMIA

El diagnóstico correcto de la dislipemia se debe realizar mediante análisis sanguíneo en el cual se debe analizar los niveles de Colesterol total, Colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos. Los niveles de colesterol no HDL, resultante de la resta del colesterol HDL de colesterol total (colesterol total - colesterol HDL = Colesterol no HDL), está cobrando importancia clínica ya que valora tanto los niveles de LDL como los de IDL y VLDL, siendo una medida más eficaz de lipoproteínas aterogénicas, además para realizar esta medición no es necesario estar en ayunas (9).

2.9.- HIPERCOLESTEROLEMIA DURANTE LA INFANCIA

En autopsias realizadas a niños y adolescentes se constató la existencia de estrías lipídicas desde edades tempranas, estas placas estaban relacionadas con la existencia de niveles elevados de Colesterol total, LDL, no HDL y niveles bajos de HDL, también se constató la relación con otros factores de riesgo de ECV (13). En otros estudio se demostró la relación existente entre niveles altos de lipoproteínas lipogénicas y disfunciones endoteliales medidas indirectamente mediante ecografía de arterias

carótidas (índice íntima-media), siendo estas alteraciones ecográficas posibles precursores de ECV (14,15). La dislipemia durante la infancia además demostrado un factor predictor de otros factores de riesgo cardiovascular tales como síndrome metabólico y diabetes tipo 2, además existe un riesgo importante de seguir padeciendo dislipemia durante la edad adulta (16,17). Aunque en adultos se ha demostrado que terapias hipolipemiantes disminuyen la incidencia de ECV, este tipo de estudios, tan prolongados en el tiempo, no existen en la edad pediátrica, por lo que no podemos afirmar que una terapia hipolipemiente en la infancia reduzca la incidencia de ECV en la edad adulta, y no debemos olvidar que este es fin último de todas las medidas preventivas que realicemos, sin embargo existen varios estudios que demuestran que pacientes tratados con agentes hipolipemiantes presentan una disminución del índice íntima- media endotelial tras varios años de tratamiento (18).

El despistaje universal de hipercolesterolemia en la infancia es una medida que genera actualmente mucha controversia, no existiendo en momento actual evidencia para realizar este despistaje (19).

Los niveles plasmáticos de lipoproteínas son diferentes en la infancia y adolescencia en comparación con la edad adulta. Los niveles de lipoproteínas y triglicéridos ascienden paulatinamente desde el nacimiento y se estabilizan entre los 2 y 4 años, manteniéndose en un mismo percentil a lo largo del tiempo durante los años prepuberales. A partir de la adolescencia, los niveles plasmáticos de colesterol total, colesterol no HDL y LDL disminuyen entre un 5 y un 10% en ambos sexos ,pero en los últimos años de la adolescencia, se produce un nuevo ascenso de colesterol total y LDL alcanzando niveles medios de adulto a partir de los 20 años (6).

Se considera dislipemia a los valores por encima del percentil 95 para la edad y sexo de colesterol total, LDL y triglicéridos (TG), y los valores de HDL por debajo del percentil 10.

El NCEP (National Cholesterol Education Program) pediátrico propone unos valores deseables, en el límite y de riesgo. El objetivo principal de diagnosticar una hipercolesterolemia en la infancia es el inicio de un tratamiento eficaz, especialmente la instauración de hábitos de vida saludables lo antes posible, para prevenir el desarrollo de ECV que se manifiesta en la edad adulta (20).

Una vez diagnosticada la dislipemia en la infancia es importante iniciar una intervención encaminada a tratar la dislipemia, pero también intervenciones encaminadas a controlar otros factores de riesgo de la ECV.

Tratamiento dietético:

El objetivo primordial del tratamiento dietético de las hipercolesterolemias será lograr que los niveles de LDL disminuyan, consiguiendo un descenso de un 10 a un 15%, aunque existen grandes variaciones individuales.

Esta dieta consiste básicamente en conseguir una ingesta calórica adecuada para favorecer el crecimiento y desarrollo de los niños y adolescentes, por lo tanto requiere un seguimiento adecuado, generalmente por parte de su pediatra de cabecera, pero además deberá aportar: hidratos de carbono 50-60%, proteínas 10-20% y grasas 30-35% de las calorías totales. El contenido en ácidos grasos saturados inferior al 9% de las calorías totales, el contenido en colesterol dietético < 300 mg/día, consumo máximo de grasas trans menor del 1% de las calorías totales, Fibra dietética de 8 a 23

g y vigilar un adecuado aporte de micronutrientes. Si después de 3 meses no se logran los objetivos terapéuticos con la dieta inicial, se introducirán otras modificaciones tales como: ingesta total de grasa 25-30% de las calorías diarias, de grasa saturada <7% de las calorías, de grasa monoinsaturada 10% y de colesterol <200 mg al día, orientada a reducir el C-LDL o los TG. Estas dietas más restrictivas deberán estar siempre controladas por un dietista, sin embargo en la realidad de la práctica contar con dietistas infantiles es complicado (21). La disminución del aporte de grasas y colesterol que sufren con frecuencia los niños que presentan una dislipemia, puede tener repercusiones sobre su crecimiento. Se ha recomendado prudencia acerca de la utilización de dietas demasiado restrictivas; ya que, al disminuir la ingesta de grasa se corre el riesgo de no proporcionar suficiente energía para asegurar un óptimo crecimiento (22).

Esta respuesta moderada de los niveles de colesterol a los tratamientos dietéticos tiene mejor eficacia en la disminución de los triglicéridos, que es muy sensible a cambios dietéticos y disminución de peso corporal. Además algunos estudios demuestran que una dieta rica en carbohidratos complejos (dieta rica en productos con bajo índice glucémico) es también eficaz para disminuir los triglicéridos (24,25,26).

Además los niños deben dedicar un número establecido de horas al día al ejercicio físico en los colegios, promover la participación en actividades deportivas según la edad, y dieta cardiosaludable en los menús escolares.

La Academia Americana de Pediatría recomienda disminuir las actividades sedentarias (televisión, juegos de ordenador, etc.) a menos de 2 horas al día en los niños > 2 años. Importante además realizar prevención primaria del consumo de tabaco ya que se ha

demostrado el papel del tabaquismo como factor de riesgo cardiovascular, ya que se asocia a la aparición de dislipemia e insulinoresistencia, favorece un estado proinflamatorio e incrementa el estrés oxidativo celular. Además la infancia es periodo ideal para la realización de actividades de educación sanitaria (23).

Estas medidas, tanto las dietéticas como las de adquisición de hábitos de actividad física entran dentro de un estilo de vida saludable, por lo tanto se deben recomendar como actitud vital de prevención primaria tanto en pacientes con dislipemia como a pacientes que no tengan alterados los lípidos sanguíneos y tengan pocos factores de riesgo cardiovascular.

Los objetivos del tratamiento de las dislipemias es mantener los niveles de LDL por debajo de 130 mg/ml como mínimo, siendo el nivel óptimo de LDL por debajo de 110 mg/ml (27).

Las dudas, respecto al tratamiento de la hipercolesterolemia, surgen cuando estos niveles no se alcanzan y decidimos recomendar tratamiento farmacológico. No debemos olvidarnos que la finalidad del tratamiento, farmacológico, dietético o de hábitos de educación sanitaria es la disminución de la incidencia de la ECV en nuestro paciente. A pesar de los conocimientos sobre la instauración de la estría grasa, paso inicial hacia la aterosclerosis, en la infancia, y los estudios que demuestran que el tratamiento adecuado de la dislipemia disminuye en la ecografía el índice íntima media, marcador indirecto de ECV, no existen estudios que demuestren que el tratamiento médico de los factores de riesgo de ECV durante la infancia disminuya el número de accidentes vasculares. Además son desconocidos los efectos de los medicamentos a tan largo plazo, desde la infancia a la edad adulta.

El tratamiento farmacológico se debe proponer a la familia y al paciente cuando el paciente tenga más de 10 años, no se han conseguido los valores deseados de lipoproteínas aterogénicas a pesar de seguir una dieta adecuada, y presenta otras condiciones que hacen pensar en mayor riesgo de tener ECV en un futuro, tales como diabetes, enfermedad renal crónica y historia familiar de ECV precoz (27).

Los fármacos que se deben usar como primera línea para la disminución de los lípidos sanguíneos son las estatinas. Las estatinas son inhibidores de la HMG-CoA reductasa, por lo tanto inhiben la formación endógena de colesterol por parte del hígado. A esta familia pertenecen los fármacos Lovastatina, simvastatina, pravastatina, rosuvastatina y atorvastatina. El tratamiento se inicia con la dosis más baja y se va titulando hasta conseguir los niveles de lipoproteínas deseados. El fármaco se debe tomar antes de dormir ya que gran parte de la síntesis de lipoproteínas ocurre durante la noche. Existen varios ensayos clínicos controlados que demuestran la efectividad de las estatinas en la población infantil para disminuir el colesterol sanguíneo sin efectos secundarios importantes (27).

Según varias guías de práctica se decide, por consenso plantear tratamiento a partir de los 10 años, en los pacientes con LDL > 190 mg/dl, LDL entre 160 y 189 mg/dl con historia de ECV prematura en familiares de primer grado, o existencia de otros factores de riesgo de ECV que no han conseguido niveles adecuados de LDL a pesar de estar con tratamiento dietético durante al menos 6 meses.

Actualmente en España el único medicamento aprobado por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) para tratamiento de la dislipemia durante la infancia y adolescencia es la pravastatina. Al iniciar tratamiento se deben medir los niveles

basales de CPK, ALT y AST. Tras 4 semanas de tratamiento se debe realizar un perfil lipídico, CPK, ALT y AST. se repite control analítico a las 8 semanas y a los 3 meses. En caso de presentar anomalías analíticas en las enzimas hepáticas o en la CPK, o presentar síntomas debidos a la medicación (mialgias). Es importante realizar un adecuado consejo de contracepción en caso de las mujeres adolescentes. Una vez se ha llegado a los niveles de lipoproteínas deseado es necesario realizar un control cada 6 meses, asi como vigilar otros factores de riesgo de ECV (HTA, obesidad, tabaco)(20,27).

2.10.- ESTEROLES VEGETALES:

Los esteroides vegetales son esteroides derivados de las plantas con estructuras similares y funciones análogas al colesterol de los vertebrados . El colesterol es el esteroide predominante en animales y tiene funciones estructurales, formando parte de la membrana celular y de regulación, siendo el sustrato de muchas hormonas y enzimas.

Las membranas de las plantas contienen poco o nada colesterol, pero presentan varios tipos de esteroides vegetales, se cree que estas sustancias actúan como componentes estructurales de las membranas vegetales a la vez que sirven de intermediarios para la biosíntesis de celulosa y numerosos productos vegetales secundarios, como los alcaloides, entre otros (28).

La estructura molecular de los esteroides vegetales es similar a la del colesterol, pero incluye un grupo metilo o etilo en el C-24 (29).

Prácticamente todos los alimentos vegetales contienen cantidades apreciables de esteroides vegetales. La fuente más concentrada son los aceites vegetales, como los de maíz, girasol, soja y colza. También se encuentran en legumbres (0,2%) y, en menor cantidad, en frutos secos, pan y vegetales.

En las dietas occidentales la ingesta diaria de estas sustancias se estima en unos 150-400 mg (30).

El colesterol, tanto el procedente de la dieta como el biliar, se absorbe entre un 35% y un 70% en el intestino. Una vez en el enterocito, el colesterol libre es esterificado por la acil-coenzima A colesterol transferasa (ACAT) y es incorporado en los quilomicrones estos últimos posteriormente pasan a la circulación.

A pesar de que su estructura química es similar, los esteroides vegetales y el colesterol difieren en lo que respecta a su absorción intestinal. Los esteroides de plantas se absorben poco en el intestino (0,4%-3,5%). Esto ocurre posiblemente porque la ACAT, que se encuentra en el enterocito, presenta una baja afinidad por los esteroides vegetales, por lo que resultan poco esterificados, y a los quilomicrones tan sólo se incorporan los esteroides esterificados (31). Otro posible responsable de esta baja absorción podría ser la presencia del doble enlace en posición 5 lo cual varía la longitud de la cadena lateral de esta sustancia (32). También se ha planteado en algunos estudios que es el funcionamiento la familia de transportadores intestinales ABC los responsables de la baja absorción de los esteroides vegetales. Estos transportadores intestinales eliminan el colesterol y esteroides vegetales del interior del enterocito a la luz intestinal para evitar su absorción y acumulación, aunque su funcionamiento es mucho más eficaz en el caso de los esteroides vegetales, devolviendo

gran parte de estos esteroides presentes en el enterocito al intestino para su eliminación (33). De hecho, las mutaciones y determinados polimorfismos en genes que codifican para los transportadores ABCG5 o ABCG8, presentes en la pared celular del enterocito y pertenecientes a la familia de los transportadores ABC, pueden desencadenar la aparición de sitosterolemia, este es un trastorno recesivo autosómico poco frecuente caracterizado por la absorción de cantidades masivas de esteroides vegetales producida por la alteración de las proteínas causantes del transporte de esteroides vegetales al lumen intestinal(34).

En el torrente sanguíneo, los esteroides vegetales son transportados por las mismas lipoproteínas que transportan los ésteres de colesterol, encontrándose aproximadamente un 70-80% en LDL y un 20-30% en HDL (35).

2.11.- ESTEROLES VEGETALES COMO AGENTES HIPOLIPEMIANTE

La ingesta media de esteroides vegetales en una dieta occidental (entre 150-400 mg/día) parece insuficiente para disminuir los niveles de lipoproteínas aterogénicas.

Gracias a varios ensayos clínicos y según recomendaciones de la guía de práctica clínica de la Sociedad Europea de Aterosclerosis publicada en 2014, con una dosis de esteroides vegetales de 2 gr/día se consigue una disminución de entre un 8 y 15% del colesterol LDL (36).

Los esteroides vegetales interfieren en la absorción del colesterol por parte de los enterocitos intestinales.

El mecanismo de esta interferencia se puede deber a varias acciones.

La teoría micelar propone que los esteroides vegetales sustituyen al colesterol animal en los micelios que se forman en la luz intestinal, estos micelios constituyen el medio de transporte del colesterol y los triglicéridos en la luz intestinal, son reconocidos por los receptores luminales de los enterocitos, que los introduce dentro de la célula mediante las proteínas de transporte específicas. Estos micelios son agregados globulares formados por ácidos biliares, ácidos grasos, monoacilglicéridos y lisofosfolípidos. Por lo tanto estos micelios permiten que los lípidos alimentarios, incluido las vitaminas liposolubles viajen por la luz intestinal hasta que es introducida en el enterocito por la proteína de transporte NPC1L1. Al aumentar la concentración de esteroides de esteroides vegetales dentro de los micelios estos micelios cambian su estructura espacial, lo cual disminuye su tasa de absorción, no absorbiéndose de paso los ésteres de colesterol, y otros lípidos alimentarios que contienen (36,37,38).

Existen otras teorías para esta acción hipolipémica, aunque con menos evidencia científica. Modificación de la expresión de los genes que codifican las proteínas NPC1L1 (responsable de transportar el colesterol dentro del enterocito desde la luz intestinal), ABCG5 / ABCG8 (responsables de transportar el colesterol desde el enterocito de vuelta a la luz intestinal) o disminuyendo la esterificación de colesterol dentro del enterocito (39).

Existe también una leve disminución de los niveles de triglicéridos sanguíneos (2). No se han mostrado efectos sobre el HDL colesterol de los esteroides vegetales.

2.12.-ESTEROLES VEGETALES PARA TRATAMIENTO DE DISLIPEMIAS:

No debemos olvidar la finalidad última del tratamiento de la dislipemia es la disminución de la incidencia de ECV. En momento el momento actual no existe

evidencia de que el tratamiento con esteroides vegetales disminuya ese riesgo, tampoco ha sido demostrado hasta el momento actual una mejoría de la salud endotelial mediante mediciones indirectas tras el uso de esteroides vegetales (40).

Estudios controlados en pacientes sanos han demostrado que no existe diferencia entre pacientes que consumen mediante los alimentos cantidades bajas (media de 126 mg/día) o altas (media 449 mg/día) de esteroides vegetales (41).

Se han realizado estudios añadiendo esteroides vegetales a varios alimentos, margarinas, yogures, queso fresco, zumos, muesli, pan galletas y por último leche desnatada. Todos estos estudios han demostrado una bajada de entre 8%-17% (42,43,44,45,46,47).

Asimismo varios estudios han demostrado una eficacia similar (5%-15%) en la bajada de LDL de los esteroides vegetales en pacientes pediátricos (48,49,50,51,52,53,54,55,56,57).

Por otra parte, varios estudios demuestran una pequeña aunque significativa disminución de la hipertrigliceridemia en pacientes que toman esteroides vegetales (2,40).

Por toda esta evidencia la Sociedad Europea de Aterosclerosis, en su guía de práctica clínica, recomienda el uso de 2 g/día esteroides vegetales en pacientes con niveles elevados de LDL pero con bajos factores de riesgo de ECV. Y como tratamiento coadyuvante, junto con otros fármacos hipolipemiantes en pacientes con más factores de riesgo de ECV (40).

2.13.- ¿SE INICIA LA ATEROESTCLEROSIS EN LA INFANCIA?

Desde la publicación en 1992 de la guía de recomendaciones del programa nacional de educación sobre colesterol desarrollado en Estados Unidos (NCEP) (63), que alertaba de la importancia de la detección precoz de factores de riesgo de ECV ha existido un interés notable en identificar y tratar, en la medida de lo posible, estos factores de riesgo como medida de prevención primaria de ECV (6). La pregunta que nos debemos hacer, por lo tanto y si la aterosclerosis, base fisiopatológica de la ECV del adulto, se inicia o no en la infancia. La aterosclerosis se caracteriza en definitiva por el depósito de lipoproteínas, macrófagos llenos de lípidos (células espumosas), células de músculo liso, y otras sustancias en la capa íntima de las arterias, este acumulo estimula una inflamación y posterior fibrosis alrededor de este depósito lo cual acaba produciendo la placa de ateroma. Estas placas de ateroma disminuyen el diámetro de las arterias disminuyendo por lo tanto el flujo sanguíneo a órganos clave, sobre todo a corazón y cerebro. La formación de un trombo en esa placa de ateroma produce un empeoramiento agudo de toda esta sintomatología pudiendo producir infartos de miocardio o cerebrales. En definitiva la enfermedad cardiovascular es el evento final de un proceso fisiopatológico, la formación de placa de ateroma, que se inicia durante la infancia. Sin embargo es extremadamente poco frecuente la aparición de signos clínicos de aterosclerosis (infarto de miocardio, enfermedad cerebrovascular) durante la infancia (6).

Existen al menos tres líneas de investigación que ponen de manifiesto la evidencia de que la placa de ateroma es un proceso que se inicia durante la infancia.

Estudios fetales:

La hipercolesterolemia materna durante el embarazo, como ocurre, entre otras patologías en las mujeres embarazadas con hipercolesterolemia familiar, puede afectar la salud futura del feto. La presencia aumentada de estrías lipídicas en las arterias fetales se ha encontrado en aproximadamente 50% de los fetos cuyas madres tuvieron hipercolesterolemia durante la infancia (64). Además existen importantes correlaciones entre los niveles de colesterol maternos durante el embarazo y la progresión de la placa de ateroma tras el nacimiento, niños cuyas madres tuvieron hipercolesterolemia durante el embarazo tuvieron una progresión más agresiva de la placa de ateroma, respecto a niños cuyas madres no tuvieron hipercolesterolemia durante el embarazo, incluso igualando los niveles de colesterol sanguíneo (65,66). Un potencial mecanismo que pueda explicar esta susceptibilidad para padecer aterosclerosis se sugiere en modelos animales donde se demuestra la persistencia en la expresión de algunos genes en mayor medida en fetos cuyas madres tienen hipercolesterolemia, por lo tanto la facilidad o dificultad para la formación de placas de ateroma puede estar condicionados por factores epigenéticos y de programación genética (65).

Estudios observacionales:

La estría grasa, precursora de la placa de ateroma existe desde la infancia, se han encontrado placas de ateroma en las arterias de adolescentes y adultos jóvenes, y generalmente está firmemente establecida en las arterias a los 20-30 años de edad, estas lesiones van aumentando en número y tamaño durante los siguientes años (67).

En otros estudios se ha encontrado que hasta en un 30% de las autopsias de niños afroamericanos de hasta 10 años existían placas de ateroma en la aorta (68). Los factores de riesgo asociados con una mayor prevalencia de estrías grasas y lesiones ateromatosas en los niños son las mismas que suponen factores de riesgo para sufrir ECV en la edad adulta, aumento de índice de masa corporal, Hipertensión arterial, dislipemia, diabetes mellitus y hábito fumador. Los datos procedentes de autopsias revelan que la severidad de la placas de ateroma en la infancia y adolescencia se relaciona directamente con estos factores de riesgo (6,15,69,70).

Estudios de aleatorización mendeliana

Estos análisis se basan en la identificación de algún tipo de fenómeno natural variable que se utiliza en el análisis estadístico para el ajuste de los posibles factores de confusión que pudieran existir en la investigación. Se han caracterizado varias mutaciones genéticas que implican una elevación de LDL colesterol sanguíneo y que están asociadas con un aumento de eventos clínicos producidos por ECV, asimismo se han encontrado varios alelos que disminuyen la prevalencia de ECV y también disminuyen los niveles sanguíneos de LDL colesterol (71,72,73).

Factores de riesgo adquiridos

Existen varios factores de riesgo adquiridos que pueden acelerar la formación de placas de ateroma. Muchos de estos factores de riesgo adquirido están relacionados entre ellos, por ejemplo la mala nutrición se relaciona con la obesidad infantil, que a la vez es un factor de riesgo para padecer hipertensión arterial, dislipemia, diabetes mellitus, y es por si misma (la obesidad) un factor de riesgo de ECV. Además los estudios remarcan que cuantos más factores de riesgo se padezcan mas es la

posibilidad de comience a producirse un mayor número de estrías lipídicas durante la infancia. Por lo tanto, los factores de riesgo adquiridos durante la infancia se correlacionan de forma mas directa con la gravedad de la aterosclerosis en el adulto que los propios factores de riesgo de ECV del adulto (67).

En definitiva, al ser la ECV una causa de mortalidad tan prevalente debemos reconocer que la adopción por parte de todos los niños y niñas, es decir por toda la población pediátrica de actitudes que impliquen una prevención primaria de ECV podría ser beneficiosa para el grueso de la población. Estas actitudes saludables se pueden definir por tener un IMC < 25, realizar 30 minutos o mas de actividad física moderada o vigorosa, tener una dieta saludable y no fumar (74).

Podemos concluir por lo tanto que la aterosclerosis es un proceso que se inicia durante la infancia, incluso durante el periodo fetal, por lo que la actuación temprana en los factores de riesgo de la ECV conocidos puede aportar buenos resultados disminuyendo la prevalencia de ECV en el adulto.

2.14- ¿COMO MEDIR LA ATEROESCLEROSIS EN LA INFANCIA?

La aterosclerosis es un proceso que se inicia en la infancia, sin embargo la manifestaciones clínicas se producen a partir de la cuarta o quinta década de la vida, por lo tanto es difícil medir la afectación vascular en la infancia. Actualmente existen técnicas de imagen no invasivas que nos pueden dar una idea de la afectación vascular en la infancia.

La pared arterial tiene tres capas, la túnica externa, rica en tejido conectivo y colágeno; la túnica media que se compone sobre todo de células musculares lisas y tejidos

elásticos, esta capa es mas gruesa y es muy diferente en arterias y en venas (más fina), por último la túnica íntima es una membrana constituida por células endoteliales, que separan la túnica media del contenido sanguíneo, esta túnica íntima además es responsable de procesos tan importantes como la inhibición de la coagulación, de la agregación plaquetaria, inhibe también la proliferación de las células musculares lisas de la túnica media y por último tiene acciones antiinflamatorias. Existe un equilibrio controlado entre sustancias vasoconstrictoras y vasodilatadoras, lo cual permite el trasvase de sangre y nutrientes de un lugar a otro del cuerpo, uno de los más potentes vasodilatadores es el óxido nítrico sintetizado por el endotelio vascular.

El sistema vascular es un complejo dinámico que debe hacer circular la sangre a todos los territorios corporales. El flujo de sangre que sale del corazón es pulsátil, pero se convierte en un flujo más continuo en las arterias periféricas. Esta transformación de flujo pulsátil en flujo continuo ocurre gracias a la complianza arterial, que es la capacidad arterial de expandirse su volumen y volver a su tamaño original, es decir está directamente relacionada con su distensibilidad (75).

Una de las técnicas de imagen que se usan para medir esta ECV incipiente es la medición de la relación del grosos íntima / media carotídea (CIMT: carotid intima-media thickness). En esta técnica se utilizan la ecografía para medir la relación entre el grosor de la capa íntima y media de las arterias carótidas, apareciendo en entre estas capas un engrosamiento del espacio entre ellas, lo cual se considera que es la expresión inicial de una estría lipídica. Las imágenes obtenidas deben ser medidas según los estándares infantiles publicados por la sociedad americana de

ecocardiografía (76,77). Esta técnica tiene la gran ventaja de ser muy poco agresiva con el paciente.

2.15 - ¿ES NECESARIO INTERVENIR O TRATAR LA DISLIPEMIA DURANTE LA INFANCIA?

Los estudios realizados a niños y niñas con hipercolesterolemia familiar, que son un grupo de paciente con un riesgo aumentado de padecer enfermedad cardiovascular con alta mortalidad y morbilidad, han demostrado que una intervención durante la infancia disminuyendo el LDL sanguíneo desacelera el proceso de formación de la placa de ateroma, lo cual se demuestra mediante la medición en ensayos clínicos de la capa íntima media de pacientes con hipercolesterolemia tratados con hipolipemiantes (78,79,80,81). Podemos asumir por lo tanto que una intervención precoz sobre la dislipemia ralentiza la formación de placas de ateroma. Debemos, sin embargo reconocer, que todos estos estudios han sido con pacientes con hipercolesterolemia familiar. Y en todos ellos los tratamientos hipolipemiantes se han realizado con estatinas.

En pacientes adultos solamente las estatinas han demostrado disminuir la mortalidad y morbilidad de ECV como prevención primaria en pacientes con dislipemia, no demostrando otros medicamentos hipolipemiantes ser una buena medida de prevención primaria (10). Serían necesarios por lo tanto estudios a largo plazo que demuestren la disminución de ECV de pacientes que inician tratamiento hipolipemiante durante la infancia, tengan otras enfermedades que hipercolesterolemia familiar y usen otros tratamientos hipolipemiantes que no sean estatinas.

2.16.- VARIABILIDAD EN LA RESPUESTA A ESTEROLES VEGETALES:

A pesar de las pruebas que demuestran la efectividad de algunos hipolipemiantes, hay que tener en cuenta que en todos estos estudios se ha encontrado de forma repetida una importante variabilidad entre individuos y variabilidad entre estudios. Esta variabilidad corresponde tanto a factores diferenciales entre los estudios, como dosis administrada, vehículo utilizado, etc; pero existe una variabilidad importante entre individuos. Esta variabilidad se ha encontrado de forma repetida en los estudios realizados con esteroides vegetales (59).

En el caso de los esteroides vegetales esta variabilidad se puede deber a dosis ingerida, alimento usado para disolver los esteroides vegetales o ingestión diaria de producto.

Por otra parte en estudios donde estos factores estaban bien controlados se presentaba asimismo una variabilidad inter individual, lo cual hace pensar que existen otros factores interindividuales responsables de esa variabilidad (60).

Uno de los posibles responsables es la capacidad de síntesis endógena de colesterol LDL, en un estudio donde se realizó un análisis retrospectivo que comparaba a pacientes con distintas tasas de síntesis de colesterol se descubrieron diferencias en las respuestas a esteroides vegetales. Lo cual sugiere que pacientes con altas tasas de síntesis de colesterol basal no responden adecuadamente a los esteroides vegetales (61). Por otra parte en varios estudios se demuestra una diferencia en la respuesta a tratamiento con esteroides vegetales dependiendo de factores genéticos del paciente (62).

Una de las posibles razones de esta variabilidad de respuesta entre individuos son los factores genéticos, algunos polimorfismos genéticos (SNP) han sido asociados con la variabilidad de respuesta a esteroides vegetales.

Por último aunque los esteroides vegetales no se consideran efectivos para el tratamiento de la hipertrigliceridemia existen numerosas publicaciones en animales y humanos que describen disminuciones leves de triglicéridos tras tratamiento con esteroides vegetales. Sin embargo, de nuevo estos datos presentan una importante variabilidad inter e intra individual (60).

2.17.- JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:

Existe suficiente evidencia científica para afirmar que los esteroides vegetales son adecuados como estrategia para disminuir las lipoproteínas aterogénicas, tanto en la edad pediátrica como en la edad adulta.

Sin embargo, según nuestro conocimiento, aunque existen ensayos clínicos realizados con esteroides vegetales usando como vehículo leche desnatada en adultos (58), no existen estudios que avalen este efecto en pacientes pediátricos.

Por otra parte la sociedad europea de aterosclerosis, en su documento de consenso sobre esteroides vegetales recomienda la realización de ensayos clínicos que impliquen población pediátrica usando vehículos para ingerir estos esteroides vegetales que se hayan usado con anterioridad (59).

Por último, pocos estudios han relacionado variables genéticas con respuesta a esteroides vegetales.

3.- HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

Un alimento funcional compuesto e leche y esteroides vegetales es eficaz para mejorar las dislipemias en la edad infantil.

4.- OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Nuestro objetivo principal con este estudio es determinar mediante el análisis de resultados del estudio la eficacia de una leche enriquecida en fitoesteroles para la disminución de marcadores de hiperlipidemia en población infantil.

Los marcadores que vamos a valorar son los siguientes.

- 1.- Determinar los niveles de lípidos en sangre total antes del ensayo y una vez realizado el mismo.
- 2.- Valorar la modificación en los niveles de colesterol sanguíneo y cuantificar la misma.
- 3.- Determinar la fracción lipídica que se modifica con la ingesta del alimento funcional y cuantificar dicha modificación para Colesterol LDL, Colesterol HDL, Colesterol no HDL.
- 4.- Valorar si se modifican los niveles de triglicéridos en sangre con la ingesta del alimento funcional y cuantificar la modificación Colesterol HDL.
- 5.- Determinar si las variables genéticas pueden influir en la respuesta de los esteroides vegetales como agentes hipolipemiantes.

5.- MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se diseñó un ensayo clínico, controlado, aleatorizado y doble ciego. La muestra fue reclutada desde la consulta de Endocrinología Pediátrica del Hospital El Escorial, San Lorenzo de El Escorial, Comunidad de Madrid, tras ser aprobado el estudio por el comité ético de Investigación clínica (CEIC) del Hospital Puerta de Hierro Majadahonda (Acta 289, 24/06/2013).

El estudio se inició en octubre de 2014 y finalizó en abril de 2015.

Este estudio se realizó al mismo tiempo que otro estudio de similares características pero con diseño cruzado, gran parte de los participantes adultos fueron los padres o familiares de los pacientes pediátricos (58).

En una segunda fase del estudio aquellos pacientes que desearon continuar con el estudio y que pertenecieron al grupo tratamiento fueron sometidos a un test genético.

En el diseño del estudio participó la cátedra UCM-CLAS de la Facultad de Medicina de la Universidad complutense de Madrid.

5.2. POBLACIÓN, ÁMBITO Y PERIODO DE ESTUDIO

La población objeto de estudio engloba a pacientes diagnosticados de hipercolesterolemia según los criterios del protocolo de dislipemias del comité de nutrición de la Asociación Española de Pediatría, que a la vez usa los criterios de El NCEP (National Cholesterol Education Program) (20), que acuden a la consulta de

Endocrinología Pediátrica durante el desarrollo del estudio o que están en seguimiento por parte de esta consulta.

La consulta de Endocrinología Pediátrica del Hospital de El Escorial pertenece a la Sección de Pediatría de dicho Hospital, en dicha consulta, inaugurada en el año 2006 y actualmente dirigida por Javier Andrés Blumenfeld Olivares, doctorando de esta tesis, Especialista en Pediatría y sus Áreas Específicas y Master en Endocrinología Pediátrica y Nutrición por la Universidad de Barcelona, se atienden aproximadamente 220 casos nuevos al año.

Dentro del ámbito de la consulta se atiende de forma especializada patología relacionada con el crecimiento, alteraciones tiroideas, alteraciones de las hormonas suprarrenales, alteraciones de las hormonas sexuales y principalmente alteraciones relacionadas con el metabolismo y nutrición tales como la obesidad infantil, la resistencia insulínica, la hipertensión arterial y la dislipemia.

5.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión: Paciente pediátrico, entre 5 y 12 años de edad con hipercolesterolemia según criterios de riesgo límite o elevado de la NCEP (Colesterol total mayor de 170 mg/dl o Colesterol LDL mayor de 110 mg/dl).

Este criterios se escogieron ya que en la guías de práctica clínica para dislipemias de la Asociación Española de Pediatría, basada en el documento de consenso de la Asociación Americana de Pediatría para prevención primaria de ECV en la infancia (6), se recomienda iniciar tratamiento dietético con recomendaciones dietéticas generales (disminuir grasas saturadas, aumentar ingesta de frutas y verduras, etc), también

llamado dieta tipo I a partir de esta cifra de colesterol total o colesterol LDL detectado en cualquier paciente pediátrico.

Al ser nuestra intervención una intervención nutricional realizada con un alimento funcional, consideramos adecuado esta cifra para iniciar una intervención en pacientes pediátricos.

Criterios de exclusión:

Inicio puberal al principio del estudio (estadio II o más de Tanner), por presentar a partir de la adolescencia una disminución en los niveles de colesterol LDL de entre 5% y 10 % pudiendo esta circunstancia interferir en los datos del estudio.

Enfermedad celiaca, ya que no existen estudios previos realizados con esteroides vegetales en pacientes celíacos.

Tratamiento con hormona de crecimiento por talla baja, cromosomopatías conocida, ya que no existen estudios previos con esteroides vegetales en estos pacientes.

Alérgicos a proteína de leche de vaca, intolerantes a la lactosa, Galactosemia; ya que en estas tres circunstancias está contraindicada la administración de leche de vaca, siendo este el vehículo en el que está diluido los esteroides vegetales.

5.4.- DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN

Previamente a la intervención los padres, madres o tutores legales de los participantes recibieron instrucciones sobre la finalidad del estudio y firmaron un consentimiento informado que fue aprobado por el Comité de Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Comunidad de Madrid (Acta 289, 24/06/2013). Para la segunda fase del estudio, el análisis genético, se solicitó una

ampliación del protocolo de estudio. Esta ampliación fue aprobada por el mismo Comité Ético de Investigación Clínica.

La participación fue absolutamente voluntaria, se explicó a los pacientes el concepto de ensayo clínico doble ciego, donde ni los pacientes ni los investigadores clínicos conocerían qué producto estaban tomando. Se explicó la posibilidad de no finalizar el estudio si los padres, tutores o niños lo deseaban en cualquier momento.

Según los criterios de la Asociación Española de Pediatría en el protocolo de tratamiento de las dislipemias (20) se recomienda un control clínico entre uno y dos años después del inicio de la intervención dietética.

Se explicó a los padres que al finalizar la intervención del estudio, de 8 semanas de duración, se volvería a realizar un análisis clínico para comprobar el efecto de la intervención. Este análisis clínico no está dentro de la intervención habitual en caso de dislipemia en pacientes pediátricos por lo que desde el Comité Ético de Investigación Clínica se recomendó contratar un seguro de responsabilidad civil por posibles daños que se pudieran producir durante la segunda extracción sanguínea (no incluida en protocolo habitual de intervención, pero necesaria para realizar el estudio). Este seguro fue subsanado por la Cátedra UCM-CLAS de la Universidad Complutense de Madrid.

Los esteroides fueron ingeridos, a través de la leche comercial "Naturcol®", suministrados por la empresa Corporación Alimentaria Peñasanta S.A., en el mercado durante todo el estudio.

Las leches fueron envasadas en blanco sin conocer ni sujetos ni investigadores el tipo de leche, diferenciadas únicamente por el color del tapón.

Se almacenaron durante todo el estudio en las dependencias habilitadas por el Hospital de El Escorial, en el Centro de Especialidades Médicas San Carlos, situado en San Lorenzo de El Escorial, y perteneciente al Hospital de El Escorial, siendo este centro de especialidades el edificio donde se localiza la consulta de Endocrinología Pediátrica donde se realizó el estudio. La habitación donde se almacenaron las leches, tanto las del estudio como las del placebo estaban cerradas con una puerta de seguridad, teniendo acceso a esta dependencia únicamente los investigadores principales y el personal de seguridad del Centro de Especialidades San Carlos.

Las leches administradas fueron en primer lugar la leche enriquecida con esteroides vegetales Naturcol® fabricada por Corporación Alimentaria Peñasanta S.A. y comercializada con la marca de “Central Lechera Asturiana”.

Cada 100 ml de este producto contienen un valor energético de 40 kcal; Proteínas 3.7g; hidratos de carbono 4.7 g (de los cuales el 100% son azúcares); Grasas (excluyendo esteroides vegetales) 0.7 g, de los cuales 0.3 g son grasas saturadas, 0.2 g son de grasas monoinsaturadas y 0.2 g de grasas poliinsaturadas; No contiene fibra. Por otra parte contiene 0.06 g/ 100 ml de sodio, 130 mg/100 ml de calcio y 0.22 mg/100 ml de Vitamina B1. Por último cada 100 ml de producto contienen 0.3 g de esteroides vegetales (información aportada por CAPSA S.A).

Por otra parte la leche usada como placebo, una leche desnatada, también fue fabricada por Corporación Alimentaria Peñasanta S.A. y también se encontraba en el

mercado durante todo el estudio, su nombre comercial es “leche denatada®” de la marca “Central Lechera Asturiana”.

Cada 100 ml de esta leche, usada como placebo, contienen un valor energético de 34 kcal; Grasas 0.25 g, de las cuales 0.17 g son de grasas saturadas; Hidratos de Carbono 4.7 g (de los cuales el 100% son azúcares); Proteínas 3.2 g. Por último este producto tiene 120 mg/100ml de Calcio (información aportada por CAPSA S.A).

El diseño del estudio fue placebo doble ciego, contando con dos ramas, una de estudio y una de placebo. La duración de estudio fue de 8 semanas. Al inicio y al final del estudio se realizaron las extracciones de sangre. Los sujetos tomaron diariamente 700 ml de leche. Esto supone una cantidad de 2.24 g de esteroides vegetales diarios. Los sujetos sometidos a placebo tomaron la misma cantidad de leche desnatada.

Todos los participantes y sus padres, madres o tutores legales recibieron consejo nutricional sobre alimentación en caso de hipercolesterolemia por nutricionistas expertos que participaron en el ensayo clínico.

Al grupo que se denomina de intervención se les indicó tomar 700 ml diarios de leche Naturcol® durante 8 semanas.

Al grupo control o placebo se les indicó tomar 700 ml diarios de “leche denatada®”, durante 8 semanas.

Ambos productos lácteos de la marca “central lechera asturiana”.

La asignación de grupos fue aleatoria, usando tablas de aleatorización por números.

Para garantizar el ciego del paciente y la familia y para garantizar el ciego del médico que le atiende ninguno de los participantes ni de los investigadores supieron en

ningún momento el contenido de los envases de lácteos asignados a cada tapón (tapón verde, correspondiente a producto de intervención y tapón naranja, correspondiente al placebo). Ambos productos, tanto Naturcol® como “leche desnatada®” poseen tapón verde en su forma comercial.

Para garantizar el ciego en el análisis se anonimizó en la base de datos la pertenencia al grupo de intervención y de control. Este análisis fue realizado por el servicio de Medicina Preventiva del Hospital de EL Escorial.

Los pacientes pertenecientes al grupo tratamiento fueron invitados a continuar el estudio genético.

5.5.- VARIABLES Y FACTORES DE ESTUDIO

Para el proyecto se ha diseñado un cuestionario Ad Hoc. Todos los cuestionarios y el estudio antropométrico fueron realizados por dos investigadores, entrenados, homogeneizando y estandarizando previamente unos criterios de uniformidad y metodología a seguir. Las variables de estudio se establecieron con el fin de encontrar posibles correlaciones que ayudasen a dilucidar y alcanzar los objetivos planteados. Género, edad, horas de sueño al día, hábito intestinal, horas de ejercicio a la semana, consumo de frutos secos por semana, consumo de pescado azul por semana, consumo de frutas al día, consumo de legumbres por semana, consumo de cereales integrales por día, consumo de bollería industrial por semana. Además se midió el peso, la talla, el índice de masa corporal (IMC), el % de grasa, % de grasa visceral y el % de músculo de cada participante. El peso, el IMC y la composición corporal, se determinaron a través de una bioimpedancia eléctrica (BIA), tetrapolar, multifrecuencia (20 t 100 kHz), Modelo InBody 270 (Microcaya S.A.).

5.6.- TAMAÑO MUESTRAL:

Se reclutaron 67 pacientes pediátricos entre 5 y 12 años.

5.7.- ANÁLISIS CLÍNICOS.

La extracción de muestras para las pruebas analíticas se llevaron a cabo por personal sanitario, tras 12 horas de ayuno, en el Centro de especialidades correspondiente y en el laboratorio del Hospital de El Escorial se siguió la metodología enzimática estandarizada para la medición del colesterol y sus fracciones (aparato Architect ci8200, Abbott).

Se midió en todos los participantes los niveles sanguíneos de Colesterol total, Colesterol LDL (calculado), Colesterol HDL, colesterol no HDL (calculado) y triglicéridos.

5.8.- ANÁLISIS GENÉTICO

De todos los participantes 26 pacientes realizaron el estudio genético.

El análisis de las variantes genéticas de interés se realizó utilizando la metodología del Proyecto Europeo Vitagenes (Granada, España). El ADN fue extraído a partir de muestras de saliva utilizando sistemas de columnas de alta calidad, fueron purificadas en gel de agarosa. Como criterio de calidad de la pureza de la extracción se estableció que la ratio de densidad óptica medida a 260 nm y a 280 nm fuese superior a 1,7.

Asimismo, se aseguró la precisión y fiabilidad de los análisis mediante los siguientes criterios técnicos: análisis por duplicado de las muestras, en caso de no haber

concordancia se realizó un tercer análisis; *call rate* >99,7%, porcentaje de los marcadores genéticos analizados del total objetivado; precisión superior al 99,7%; mantener el equilibrio establecido por la ley de Hardy-Weinberg; y aplicación de controles negativos de agua.

Se analizaron los siguientes genes

APOA5 C56G Ser19Trp, rs3135506, que contenía los siguientes variables CC (Ser/Ser), CG (Ser/Trp) y GG (Trp/Trp).

Prothrombin G20210A , rs1799963, que contenía las siguientes variables. GG, GA Y AA.

F5 Arg506Gln, rs6025. Con las variables GG (Arg/Arg), GA (Arg/Gln) y AA (Gln/Gln).

MTHFR C677T, rs1801133 con las variables CC, CT y TT

LIPC C-514T, rs1800588 con las variables CC, CT y TT

LPA I4399M, rs3798220 con las variables TT (I/I), TC (I/M) y CC (M/M)

PPAR-alpha L162V, rs1800206 con las variables CC (L/L), CG (L/V) y GG (V/V)

APOA5 -1131T>C, rs662799 con las variables TT, TC y CC.

APOE Haplotipo APOE2/3/4 rs429358 con las variables TT, TC y CC.

APOE Haplotipo APOE2/3/4 rs7412 con las variables TT, TC y CC

5.9.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el estudio descriptivo de los datos sociodemográficos, antropométricos y de los valores lipídicos las variables cualitativas se expresan mediante porcentajes y las cuantitativas mediante la media y desviación estándar si cumplen el supuesto de normalidad o mediana si no lo hacen. El análisis de normalidad se llevó a cabo mediante el test de Kolmogorov Smirnov.

Se compararon los dos grupos, el de intervención y el de control, para estudiar si había diferencias en cuanto a alguna de las variables atribuible a la aleatorización.

Para el estudio de la asociación entre variables cualitativas se utilizaron la Chi cuadrado y el test estadístico de Fisher si alguno de los valores esperados era menor de cinco. Para el estudio de la asociación entre una variable cualitativa y una cuantitativa se utilizó la t de Student de comparación de medias para muestras independientes para variables de dos categorías y el Anova cuando hay más de dos categorías.

Para estudiar el efecto de la ingesta de Naturcol® y placebo se calculó la diferencia en los valores lipídicos antes y después de la ingesta, aplicándose la prueba de análisis de la varianza de medidas repetidas. Con el fin de establecer el efecto de la ingesta de Naturcol frente a placebo con independencia de los posibles factores confusores se probaron como covariables en los modelos aquellas variables que mostraron cierto grado de asociación con la variable independiente ($p < 0.10$).

El nivel de significación aplicado ha sido del 5%. Para el análisis de los datos se ha utilizado el paquete estadístico SPSS 21.0.

5.10.- BIOÉTICA DEL ESTUDIO

Este estudio siguió los principios éticos reconocidos por la Declaración de Helsinki (revisado Hong-Kong en Septiembre, 1989 y en Edimburgo, Escocia en 2000), las recomendaciones de la buena práctica clínica EEC (documento 111/3976/88, Julio 1990), la actual legislación española que regula la investigación clínica y biomédica en humanos, protección de datos personales y bioéticos (Decreto Real 561/1993 sobre ensayos clínicos y 14/2007, 3 Julio para la investigación biomédica).

6.- RESULTADOS

Se reclutaron 67 pacientes pediátricos para el ensayo clínico. De estos 67 pacientes 5 fueron excluidos por no ingerir de forma adecuada la cantidad de lácteos solicitada, por no realizar el análisis al final del estudio, o por decidir abandonar el ensayo durante su realización. En otros 4 pacientes no se pudo realizar el análisis estadístico al faltar las fracciones de colesterol solicitadas en el análisis sanguíneo inicial o final. Un total de 58 pacientes finalizaron el estudio con todos los análisis solicitados según el protocolo del estudio.

6.1.- DATOS INICIALES DE LA COHORTE DE PACIENTES

6.1.1.- EDAD, GÉNERO Y DATOS ANTROPOMÉTRICOS

Edad

La media de de edad de los participantes en el ensayo clínico fue de 8.82 años, la mediana de 8.5 años y las desviación típica de 2.280.

Género

De los participantes en el ensayo clínico 36 fueron de sexo femenino, es decir el 62,1%, y 22 de sexo masculino, es decir 37.9%.

Antropometría

De todos los participantes en el ensayo la media de peso es de 33.4 kg, mediana de 29.6 kg y una desviación típica de 15.26. La media de talla 131 cm, la mediana de talla 1.32 cm con una desviación típica de 0.13 cm. El IMC tuvo un media de 18.45, mediana de 16.6 y desviación típica de 4.75. El porcentaje de grasa total medido según

procedimientos explicados en material y métodos tuvo una media de 24.40%, una mediana de 21.3% y una desviación típica de 10.24. El porcentaje de grasa visceral medido según los procedimientos explicados en material y métodos tuvo una media de 3.86% , una mediana de 1.7% y una desviación típica de 4.56. El peso total de los músculos, medidos según las especificaciones en material y métodos tuvo una media de 11-98 kg, una mediana de 11.2 kg y una desviación típica de 4.82. Por último el gasto metabólico basal medido tuvo una media de 890 Kcal, una mediana de 856 Kcal y una desviación típica de 170.7.

Estadísticos antropométricos							
	Peso	Talla	IMC	Grasa total (%)	Grasa visceral (%)	Musculo	GMB
Media	33,4449	1,3141	18,4531	24,4020	3,8673	11,9837	890,31
Mediana	29,6000	1,3200	16,6000	21,3000	1,7000	11,2000	856,00
Desv. Típica	15,26075	,13907	4,75772	10,24507	4,56245	4,82685	170,708

6. 1. 2. PERFIL LIPÍDICO ANTES DEL ESTUDIO

Antes de iniciar el estudio los pacientes presentaron una media de colesterol sanguíneo total de 200.54 mg/dl, con una desviación típica de 30.67. La media de colesterol LDL fue de 131.06 mg/dl, con una desviación típica de 28.56. La media de colesterol HDL fue de 53.7 mg/dl, siendo la desviación típica de 11.49. La media de colesterol No HDL fue de 148.36 mg/dl, siendo la desviación típica de 33.43. Y por último la media de triglicéridos sanguíneos fue de 79 mg/dl, siendo la desviación típica de 55.52.

Estadísticos, niveles de lipoproteínas sanguíneas					
	Col. basal	LDLc Basal	HDLc Basal	TG basal	Col no HDL basal
Media	200,5484	131,0690	53,7797	79,6774	148,3607
Desv. Típica	30,67208	28,56501	11,49673	55,52278	33,43054

6.1.3. DATOS DE SUEÑO Y EJERCICIO.

Al inicio del estudio se realizó una encuesta diseñada ad hoc. Se preguntaron sobre las horas de sueño diarias y las horas de ejercicio semanales.

La media de horas de sueño diarias fueron de 9.62 horas al día, con una desviación típica de 0.884.

Horas sueño		
Horas de sueño diario	Frecuencia	Porcentaje válido
8	1	1,8
8.5	5	8,9
9	3	5,4
9.5	9	16,1
10	7	12,5
10.5	22	39,3
11	2	3,6
11.5	7	12,5
Total	58	100,0

Respecto a las horas de ejercicio semanales, los pacientes participantes presentan una media de 4.30 de horas de ejercicio semanales, con una desviación típica de 1.95. En esta encuesta hay dos pacientes que no han respondido, por lo que las medias y frecuencias se realizaron sobre 56 pacientes.

Horas de ejercicio semanales		
Horas de ejercicio semanales	Frecuencia	Porcentaje válido
,00	1	1,8
1,00	2	3,6
2,00	6	10,7
2,50	1	1,8
3,00	12	21,4
3,50	1	1,8
4,00	9	16,1
4,50	1	1,8
5,00	7	12,5
6,00	4	7,1
6,50	1	1,8
7,00	9	16,1
8,00	2	3,6
Total	56	100,0

6.1.4. DATOS SOBRE HÁBITOS DE ALIMENTACIÓN

En la encuesta se preguntó si los pacientes consumían más de 2 raciones por semana de frutos secos. El 14.3 %, un total de 8 pacientes consumen más de dos raciones de frutos secos por semana. El 85% de los pacientes, un total de 48 no consumían más de 2 raciones de frutos secos a la semana. Los datos se obtuvieron sobre 56 pacientes.

Consumo semanal de frutos secos		
	Frecuencia	Porcentaje válido
> 2 raciones por semana	8	14,3
2 o menos por semana	48	85,7
Total	56	100,0

Respecto al consumo de pescado azul se les pidió a los participantes que respondieran la frecuencia semanal de consumo de pescado azul. El 10.7 % de los participantes, 6 sujetos, consume pescado azul más de 2 veces por semana. El 44.6 %, 25 sujetos, consume pescado azul entre 1 y 2 veces por semana. Y otro 44.6% de los participantes consume pescado azul menos de una vez por semana. A esta parte de la encuesta respondieron 56 sujetos.

Consumo semanal de pescado azul		
	Frecuencia	Porcentaje válido
> de 2 veces por semana	6	10,7
1-2 veces por semana	25	44,6
< de 1 vez por semana	25	44,6
Total	56	100,0

También se preguntó por el consumo de frutas diario. Un 3.6%, 2 sujetos, de los encuestados no consume fruta en ningún momento. Un 33.9%, 19 sujetos, consumen fruta una vez al día. Un 35.7% de los encuestados, 20 sujetos, consumen fruta 2 veces al día. Por último 15 sujetos, un 26.8%, consumen fruta 3 o más veces al día.

Consumo diario de frutas		
	Frecuencia	Porcentaje válido
No consume frutas	2	3,6
Consume 1 vez al día	19	33,9
Consume 2 veces al día	20	35,7
Consume 3 o más veces al día	15	26,8
Total	56	100,0

El consumo de legumbres semanal, presento las siguientes frecuencias. EL 12.5% de los encuestados no consume legumbres. Un 26.8% consume legumbres una vez por semana, el 51.8% de los encuestados consume legumbres 2 veces por semana. Por último un 8.9% consume legumbres 3 o más veces por semana.

Consumo semanal de legumbres		
	Frecuencia	Porcentaje válido
No consume	7	12,5
1 vez por semana	15	26,8
2 veces por semana	29	51,8
3 o más veces por semana	5	8,9
Total	56	100,0

Por otra parte se preguntó sobre los hábitos de alimentación que se consideran poco saludables.

El consumo de bollería industria entre los pacientes con hipercolesterolemia que participaron en el ensayo clínico tuvieron estas frecuencias. 64.3% no consume bollería industrial (36 sujetos). 19.6 % consume bollería industrial una vez por semana (11 sujetos). 10.7% consume bollería 2 veces por semana (6 sujetos) y por último 5.4% consumen bollería industrial 3 o más veces por semana (3 sujetos).

Consumo semanal de bollería industrial		
	Frecuencia	Porcentaje válido
No consume bollería	36	64,3
Consume bollería una vez por semana	11	19,6
Consume bollería dos veces por semana	6	10,7
Consume bollería 3 o más veces por semana	3	5,4
Total	56	100,0

El consumo de snacks tuvo la siguiente distribución de frecuencias. El 50% de los participantes no consume snacks (28 sujetos). El 39.3 % de los sujetos consume snacks una vez por semana (22 sujetos). 7.1% de los sujetos consume snacks 2 veces por semana (4 sujetos), por último 3.6% de los sujetos, 2 pacientes consume snacks 3 o más veces por semana.

CONSUMO SEMANAL DE SNACKS		
	Frecuencia	Porcentaje válido
No consume	28	50,0
Consume una vez a la semana	22	39,3
Consume 2 veces a la semana	4	7,1
Consume 3 o más veces a la semana	2	3,6
Total	56	100,0

Por último se preguntó la frecuencia semanal con la que se acude a un establecimiento de comida rápida a la semana. El 61.9% de los encuestados no suelen acudir a restaurantes de comida rápida (39 sujetos). El 20.6%, 13 individuos, acuden con una frecuencia de una vez por semana, y en último lugar 4 de los encuestados, un 6.3% de los pacientes con hipercolesterolemia acuden 2 veces por semana a establecimientos de comida rápida.

Frecuencia semanal de uso de establecimientos de comida rápida		
	Frecuencia	Porcentaje válido
No acuden	39	61,9
Acuden una vez por semana	13	20,6
Acuden 2 veces por semana	4	6,3
Total	56	88,9

6.2.- COMPARACIÓN DEL GRUPO TRATAMIENTO Y DEL GRUPO PLACEBO

Los participantes en el ensayo clínico se dividieron de forma aleatorizada en dos grupos. Un grupo tratamiento, que consumió leche enriquecida con esteroides vegetales, con 29 sujetos. Y un grupo control que consumió leche desnatada no enriquecida con esteroides vegetales, que contaba igualmente con 29 sujetos. Se comprobó la normalidad de las variables y que no presentaban diferencias significativas entre los dos grupos en edad, género, peso, talla y la antropometría, hábitos nutricionales y valores iniciales de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol no HDL y triglicéridos sanguíneos.

6.2.1.- EDAD, GÉNERO Y DATOS ANTROPOMÉTRICOS

La edad media de los participantes en ambos grupos fue de 8.8 años, con una desviación típica en ambos grupos de 2.2. En el grupo tratamiento había 58% de niños y 42% niñas, en el grupo control había 65% de niños y 35% de niñas. La media de peso fue de 34.6 kg, con desviación típica de 15.8, en el grupo tratamiento y de 33.5 kg, con desviación típica de 13.8, en el grupo control. La talla media fue de 131 cm, con desviación típica de 0.14, en el grupo tratamiento y de 132 cm, con desviación típica de 0.13, en el grupo control. La media del IMC fue de 19.1, con desviación típica de 4.6, en el grupo de tratamiento y de 18.4, con desviación típica de 4.7, en el grupo control. La media de porcentaje de grasa total en el grupo de tratamiento fue de 25.6% siendo esta media en el grupo control de 24.4%. La media de grasa visceral en el grupo de tratamiento fue de 4.18%, siendo esta media de 3.9% en el grupo control. Por último la

media de peso muscular total fue de 12.2 kg en el grupo de tratamiento y de 12.2 kg en el grupo control. Ninguna de estas variables presentaba diferencias significativas entre ambos grupos.

VARIABLE	Grupo de tratamiento con esteroides vegetales (media). N = 29	Grupo de control, placebo con leche desnatada (media). N=29
Edad (años)	8.8	8.8
peso (kg)	34.6	33.5
Género (varones)	58%	65%
Talla (m)	1.31	1.32
IMC	19.1	18.4
Grasa total (%)	25.6	24.4
Grasa visceral (%)	4.18	3.9
Musculo(kg)	12.2	12.2

6.2.2.- DATOS DE SUEÑO Y EJERCICIO:

La media de horas de sueño en el grupo de tratamiento fueron de 9.57 horas al día, con una desviación típica de 0.8. En el grupo de control la media de horas de sueño fue de 9.66 horas al día, con una desviación típica de 0.9. Con respecto a las horas de ejercicio semanal en el grupo tratamiento se realizaron como media 4.5 horas de ejercicio a la semana, con una desviación típica de 2.08 horas. En el grupo control se realizaron de media 4.13 horas de ejercicio a la semana, con una desviación típica de 1.9. Ninguna de estas variables presentaba diferencias significativas entre ambos grupos.

	Grupo de tratamiento (media). N = 29	Grupo control (media). N=29
Horas de sueño (media al día)	9.57	9.66
Horas de ejercicio (media al día)	4.5	4.13

6.2.3.- DATOS DE HÁBITOS NUTRICIONALES

Se compararon también el grupo tratamiento y el grupo control para ver si existían diferencias significativas con respecto a los hábitos nutricionales.

En el consumo de frutos secos se describió una frecuencia mayor de 2 raciones por semana de 21.4 % en el grupo tratamiento, y de 7.1% en el grupo control. El 78.6% de los participantes en el grupo de tratamiento y el 92.9 de los participantes en el grupo control consumieron 2 o menos raciones de frutos secos por semana.

Consumo semanal de frutos secos en raciones

VARIABLES	Grupo tratamiento. N = 29	Grupo control N=29
> 2 raciones por semana	21.4%	7.1%
2 o menos raciones por semana	78.6%	92.9%

El consumo de pescado azul en el grupo de tratamiento tuvo estas características. El 14,3% de los pacientes consumieron pescado azul mas de dos veces por semana, el 39.3% de los pacientes consumieron pescado azul entre una y dos veces por semana, el 46.4% de los pacientes consumieron pescado azul menos de una vez por semana. El consumo de pescado azul en el grupo de control tuvo estas características. 7.1% de los participantes consumió pescado azul más de dos veces por semana, 50% consumió pescado azul entre 1 y 2 veces por semana y el 42.9% consumió pescado azul menos de una vez por semana.

Consumo semanal de pescado azul

VARIABLES	Grupo tratamiento. N = 29	Grupo control . N=29
> 2 veces por semana	14.3%	7.1%
Entre 1-2 veces por semana	39.3%	50.0%
< 1 vez por semana	46.4%	42.9%

En el grupo de tratamiento el 7.1% de los pacientes no consumen frutas en ninguna ocasión, el 28.6% consumen fruta una vez al día, el 39.3% consumen fruta dos veces al día y el 25% consumen fruta 3 o más veces al día. En el grupo control el 0% nunca consumen fruta, el 39.3% consumen fruta una vez al día, el 32.1% consumen fruta dos veces al día y el 28.6% consumen fruta 3 o más veces al día.

Consumo diario de frutas		
VARIABLES	Grupo tratamiento. N = 29	Grupo control. N=29
No come fruta	7.1%	0%
Una vez al día	28.6%	39.3%
Dos veces al día	39.3%	32.1%
3 o más veces al día	25.0%	28.6%

Con respecto al consumo de legumbres. En el grupo tratamiento el 14.3% no consumen legumbres de forma habitual, el 28.6% consumen legumbres una vez a la semana, el 46.4% consumen legumbres 2 veces por semana y el 10.7% consumen legumbres 3 o más veces por semana. En el grupo control el 10.7% no consumen legumbres de forma habitual, el 25% consumen legumbres una vez por semana, el 57.1% consumen legumbres 2 veces por semana y el 7.1% consumen legumbres 3 o más veces por semana.

Consumo semanal de legumbres		
VARIABLES	Grupo tratamiento. N = 29	Grupo control. N=29
No come habitualmente	14.3%	10.7%
Consume una vez por semana	28.6%	25.0%
Consume dos veces por semana	46.4%	57.1%
Consume 3 o mas veces por semana	10.7%	7.1%

Los descriptivos de consume de bollería industrial son los siguientes. En el grupo tratamiento el 60.7% no consumen de forma habitual bollería industrial, el 17.9% lo consumen una vez por semana, el 14.3% lo consumen 2 veces por semana y el 7.1% lo consumen 3 o mas veces por semana. En el grupo control el 67.9% no consumen de forma habitual bollería industrial, el 21.4% lo consumen una vez por semana, el 7.1% lo consumen dos veces por semana y el 3.6% lo consumen 3 o mas veces por semana.

Bollería industrial		
VARIABLES	Grupo tratamiento. N = 29	Grupo control. N=29
No consume bollería	60.7%	67.9%
Consume una vez por semana	17.9%	21.4%
Consume dos veces por semana	14.3%	7.1%
Consume tres o mas veces por semana	7.1%	3.6%

Ninguna de estas variables presentaba diferencias significativas en ninguno de los hábitos nutricionales encuestados entre ambos grupos.

6.2.4.- DATOS INICIALES DE NIVELES DE LÍPIDOS SANGUÍNEOS EN AMBOS GRUPOS.

Al inicio del ensayo los niveles sanguíneos de colesterol total, en el grupo tratamiento eran de 212.03 mg/dl de media, con una desviación típica de 36. Los niveles de colesterol total en el grupo control fueron de 190.62 mg/dl de media con una desviación típica de 21.

Los niveles sanguíneos de colesterol LDL en el grupo tratamiento fueron de 140.89 mg/dl de media, con una desviación típica de 34. Los niveles de la misma lipoproteína en el grupo control fueron de 121.78 mg/dl de media, con una desviación típica de 18. En ambos casos las diferencias de las medias al inicio del tratamiento entre los dos grupos tienen una diferencia estadísticamente significativa, El valor p de esta diferencia en ambos casos es de 0.015.

Los niveles de HDL colesterol en el grupo tratamiento fueron de 54.79 mg/dl de media, con desviación típica de 11. Estos mismos niveles en el grupo de control fueron de 54 mg/dl de media, con una desviación típica de 11. Los niveles de colesterol no HDL iniciales en el grupo tratamiento fueron de 157.29 mg/dl de media, con una desviación típica de 37. Los niveles del colesterol no HDL en el grupo control fueron de 135.67 mg/dl de media, con una desviación típica de 38. Por último los niveles de triglicéridos sanguíneos antes de iniciar el tratamiento en el grupo de tratamiento fueron de 84.79

mg/dl de media, con una desviación típica de 58. En el grupo control esta media de triglicéridos sanguíneos fue de 68.1 mg/dl, con una desviación típica de 36.

Estas tres últimas variables no presentaban diferencias significativas entre el grupo control y el grupo tratamiento.

Niveles iniciales de lípidos sanguíneos antes de iniciar el ensayo			
	Grupo tratamiento. N=29 (media)	Grupo control. N=29 (media)	Diferencia significativa
Colesterol total mg/dl	212.03	190.62	si
Colesterol LDL mg/dl	140.89	121.78	si
Colesterol HDL mg/dl	54.79	54	no
Colesterol no HDL mg/dl	157.39	135.67	no
Triglicéridos mg/dl	84.79	68.1	no

6.3.- DATOS COMPARATIVOS DE LÍPIDOS SANGUÍNEOS TRAS INGESTA DE LACTEOS CON ESTEROLES VEGETALES Y LACTEOS SIN ESTEROLES VEGETALES

Tras la realización del ensayo clínico doble ciego con esteroides vegetales se realizaron nuevamente analítica sanguínea en las mismas condiciones que las analíticas realizadas antes del estudio y se compararon resultados entre ambos grupos, el tratamiento y el placebo.

Tras la ingesta observamos diferencias significativas entre las medias del grupo que ha ingerido la leche enriquecida con esteroides vegetales y el grupo que ha ingerido la leche desnatada sin esteroides vegetales en el descenso de colesterol total, colesterol LDL, colesterol no HDL, manteniéndose los niveles de HDL prácticamente invariables.

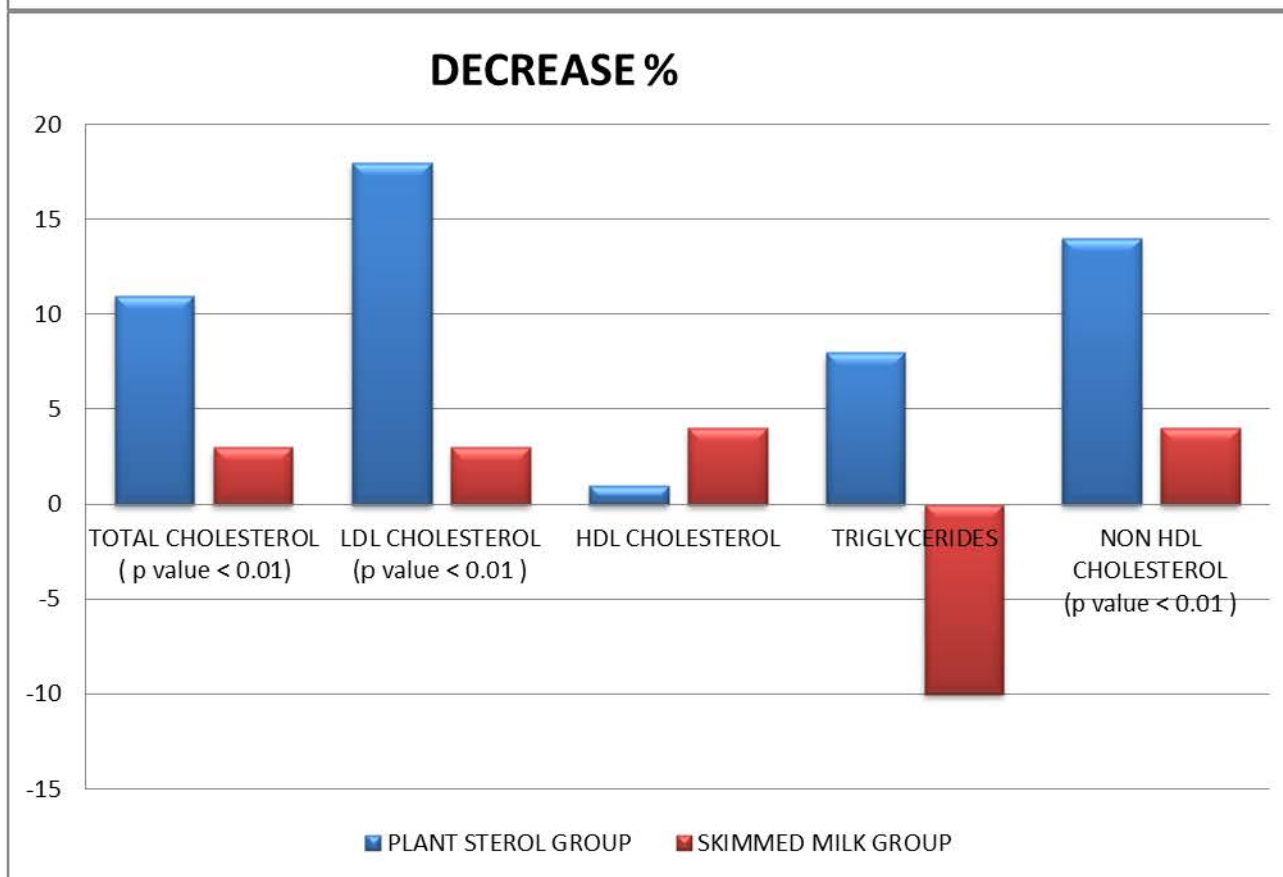
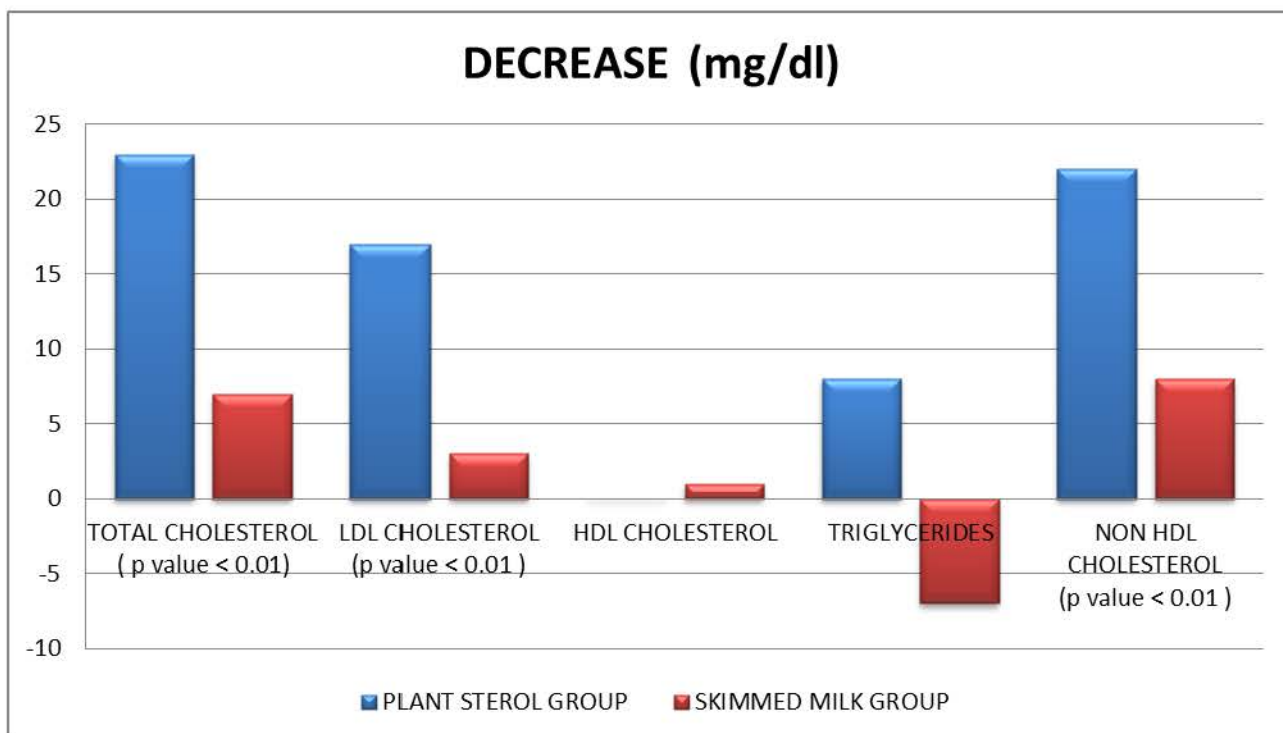
La media de resultados finales se distribuye de la siguiente manera en ambos grupos. Colesterol total en grupo tratamiento presenta una media de 188 mg/dl (desviación típica de 41), y en el grupo control 183 mg/dl (desviación típica de 23). Colesterol LDL presenta una media tras el tratamiento en el grupo estudio de 118 mg/dl (desviación típica de 37), y en el grupo control presenta una media de 116 mg/dl (desviación típica de 21). EL colesterol HDL presenta una media tras el tratamiento en el grupo que consumió esteroides vegetales de 53.72 mg/dl (desviación típica de 11), en el grupo control la media tras el ensayo es de 51.76 (desviación típica de 11). Los niveles de colesterol no HDL tras el ensayo en el grupo de pacientes con esteroides vegetales son de 134.55 mg/dl (desviación típica de 40) de media, los niveles en el grupo control son de 127.13 mg/dl de media (desviación típica de 33). Por último los niveles de triglicéridos en el grupo de estudio tras el ensayo son de 76.45 mg/dl de media (desviación típica de 72), y en el grupo control de 75.34 mg/dl (desviación típica de 45).

El colesterol total desciende de media tras el uso de leche enriquecida con esteroides un 11.08 % (95% IC, 6.88% a 15.28%. $p = 0.007$), siendo el descenso en valores absolutos de 23,76 mg/dl (95%IC, 13.43mg/dl a 34.08 mg/dl. $P = 0.006$). El colesterol LDL presenta una disminución media de 18.29 % (95%IC, 10.01% a 26.56%. $p = 0.003$) siendo el descenso en valores absolutos de colesterol LDL de 17.32 mg/dl (IC 95%, 3.51 mg/dl a 31.14 mg/dl. $P = 0.028$). El colesterol no HDL desciende un 14 % de media (95%IC, 8.90% a 19.62 %. $P = 0.014$), siendo el descenso en valores absolutos de 22.7 mg/dl tras la ingesta de lácteos enriquecidos con esteroides (95%IC 12.67mg/dl a 32.74 mg/dl $p = 0.013$). Estos cambios observados antes y después de iniciar tratamiento con esteroides son estadísticamente significativos.

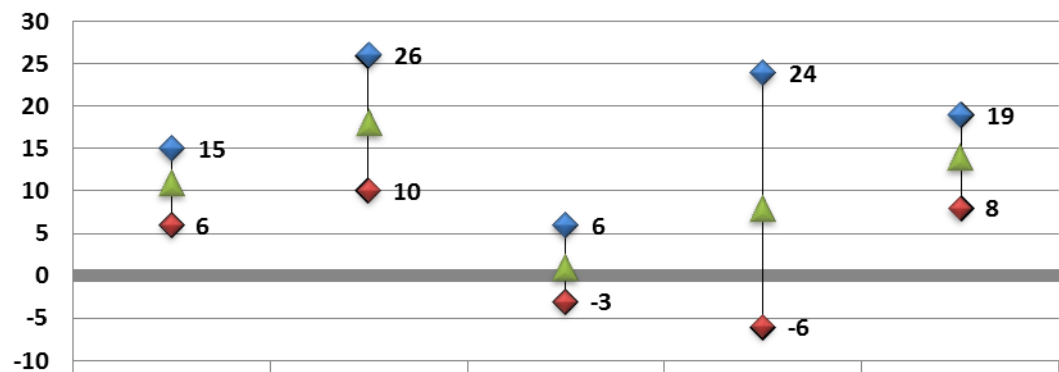
En el grupo tratamiento además los niveles de colesterol HDL aumentan un 0.83%, siendo el aumento en valores absolutos de 1.7 mg/dl. Los niveles de triglicéridos en este grupo disminuyen de media 10.48%, siendo el valor absoluto del descenso de 7 mg/dl de media. Estos cambios detectados antes y después del tratamiento no tienen significación estadística.

EL descenso de media en el grupo del placebo (leche desnatada sin esteroides vegetales) se distribuye de la siguiente manera. Colesterol total presenta un descenso de 3.68% de media, siendo en valores absolutos este descenso de 7 mg/dl de media. EL colesterol LDL presenta un descenso de 3.7%, siendo este descenso de 3 mg/dl de media. EL colesterol HDL presenta un descenso de 4.13% de media, siendo este descenso medio en valores absolutos de 1.43 mg/dl. El colesterol no HDL presenta un descenso medio de 4.8% , siendo esto en valores absolutos 8.53 mg/dl. Los triglicéridos sin embargo presentan un aumento de 10%, 7 mg/dl en valores absolutos en los pacientes que han tomado el placebo. Ninguno de estos descensos, ni el ascenso de triglicéridos tienen significación estadística.

No se han presentado efectos secundarios durante la realización del tratamiento.

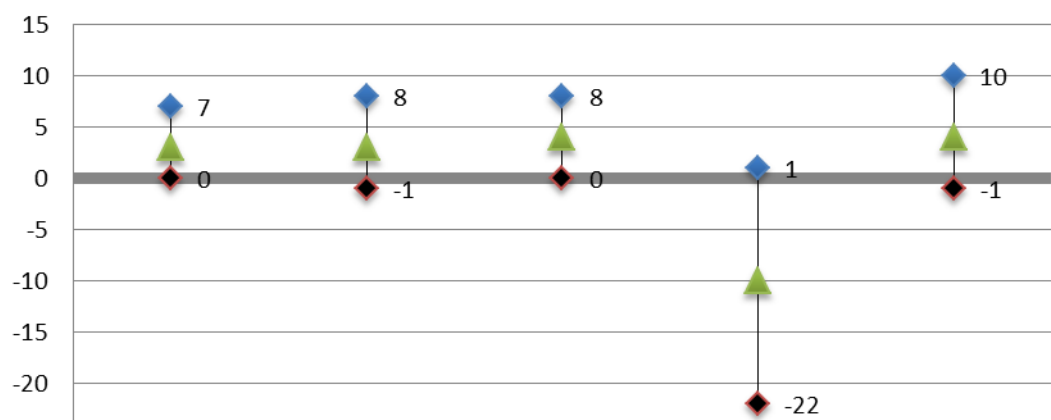


DECREASE % OF PLANT STEROL ENRICHED MILK (95%CI)



	TOTAL CHOLESTEROL (%)	LDL CHOLESTEROL (%)	HDL CHOLESTEROL (%)	TRIGLYCERIDES (%)	NON HDL CHOLESTEROL (%)
◆ UPPER LIMIT	15	26	6	24	19
◆ LOWER LIMIT	6	10	-3	-6	8
▲ MEAN	11	18	1	8	14

DECREASE % WITH SKIMMED MILK (95% CI)



	TOTAL CHOLESTEROL (%)	LDL CHOLESTEROL (%)	HDL CHOLESTEROL (%)	TRIGLYCERIDES (%)	NON HDL CHOLESTEROL (%)
◆ UPPER LIMIT	7	8	8	1	10
◆ LOWER LIMIT	0	-1	0	-22	-1
▲ MEAN	3	3	4	-10	4

6.4.- DATOS ESTUDIO GENÉTICO

De todos los participantes en el grupo tratamiento, 29 en total, 26 pacientes decidieron continuar con la segunda fase del ensayo y someterse al test genético arriba explicado.

Los 26 participantes presentaban una media inicial de colesterol total basal de 212 mg/dl (desviación típica de 37), colesterol LDL basal de 142 mg/dl (desviación típica de 35), Colesterol HDL basal de 54 mg/dl (desviación típica de 11), colesterol no HDL basal de 157 mg/dl (desviación típica de 37) y triglicéridos basales de 79 mg/dl (desviación típica de 46). Los datos de las medias de lipoproteínas tras las 8 semanas de tratamiento fueron de, colesterol total 185 mg/dl (desviación típica de 39), LDL colesterol 118 mg/dl (desviación típica de 36), HDL colesterol de 53 mg/dl (desviación típica de 11), colesterol no HDL de 131 mg/dl (desviación típica de 38) y triglicéridos de 65 mg/dl (con desviación típica de 36).

Las medias de los porcentajes de descenso, y de la cantidad total de descenso antes y después de consumir esteroles vegetales fueron que el colesterol total descendió un 12 % de media (desviación típica de 10) y 26 mg/dl, el colesterol LDL tuvo un descenso medio de 16 % (desviación típica de 14) y 18 mg/dl, el colesterol HDL descendió de media un 0.8 % (desviación típica de 15) y 1.35 mg /dl, el colesterol no HDL descendió de media un 16% (desviación típica de 13) y 26 mg/dl y los triglicéridos descendieron una media de 11% (desviación típica de 40) y 14 mg/dl.

Valores iniciales y finales de los participantes en el estudio genético					
	Colesterol total	Colesterol LDL	Colesterol HDL	Colesterol no HDL	Triglicéridos
Basal mg/dl	212	142	54	157	79
Final mg/dl	185	118	53	131	65
Descenso %	12	16	1	16	11
Descenso mg/dl	26	18	1	26	14

Las frecuencia de los genes analizados fueron las siguientes

Gen APOA5 C56G Ser19Trp Variante rs3135506	
Wildtype CC (Ser/Ser)	0 pacientes
Heterocigota CG (Ser/Trp)	5 pacientes
Homocigota GG (Trp/Trp)	21 pacientes

Gen Prothrombin G20210A Variante rs1799963	
Wildtype GG	26 pacientes
Heterocigota GA	0 pacientes
Homocigota AA	0 pacientes

Gen F5 Arg506Gln variante rs6025	
Wildtype GG (Arg/Arg)	26 pacientes
Heterocigota GA (Arg/Gln)	0 pacientes
Homocigota AA (Gln/Gln)	0 pacientes

Gen MTHFR C677T variante rs1801133	
Wildtype CC	8 pacientes
Heterocigota CT	15 pacientes
Homocigota TT	3 pacientes

Gen LIPC C-514T variante rs1800588	
Wildtype CC	6 pacientes
Heterocigoto CT	13 pacientes
Homocigoto TT	7 pacientes

Gen LPA I4399M variante rs3798220	
Wildtype TT (L/L)	25 pacientes
Heterocigoto TC (L/M)	1 paciente
Homocigoto CC (M/M)	0 pacientes

Gen PPAR-alpha L162V variante rs1800206	
Wildtype CC (L/L)	22 pacientes
Heterocigoto CG (L/V)	4 pacientes
Homocigoto GG (V/V)	0 pacientes

Gen APOA5 -1131T>C variante rs662799	
Wildtype TT	24 pacientes
Heterocigoto TC	2 pacientes
Heterocigoto CC	0 pacientes

Gen APOE Haplotipo APOE2/3/4		
	Variante rs429358	Variante rs7412
Wildtype TT	22 pacientes	0 pacientes
Heterocigoto TC	4 pacientes	5 pacientes
Homocigoto CC	0 pacientes	21 pacientes

La distribución de medias del valor absoluto de bajada de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol no HDL y triglicéridos según los diferentes haplotipos de las diferentes variantes de genes la mostramos en las siguientes tablas. Los valores se refieren a los valores absolutos de descenso, los valores negativos significan aumentos.

Gen APOA5 C56G Ser19Trp Variante rs3135506							
	<i>N</i>	<i>Variante genética</i>	<i>Media (mg/dl)</i>	<i>Desviación típica</i>	<i>intervalo confianza 95% (mg/dl)</i>		<i>Significación estadística</i>
					<i>Límite inferior</i>	<i>Límite superior</i>	
Colesterol total							
	5	CG	19	14	1	37	0.526
	21	GG	28	29	15	41	
Colesterol LDL							
	5	CG	20	17	-1	43	0.904
	21	GG	18	40	0.11	36	
Colesterol HDL							
	5	CG	0.8	8	-9	11	0.693
	21	GG	-1.86	14	-8	4	
Colesterol no HDL							
	5	CG	19	21	15	53	0.557
	21	GG	27	25	15	39	
triglicéridos							
	5	CG	-18	21	-53	15	0.001
	21	GG	20	18	12	28	

<i>Gen MTHFR C677T variante rs1801133</i>							
	<i>N</i>	<i>Variante genética</i>	<i>Media (mg/dl)</i>	<i>Desviación típica</i>	<i>intervalo confianza 95% (mg/dl)</i>		<i>Significación estadística</i>
					<i>Límite inferior</i>	<i>Límite superior</i>	
<i>Colesterol total</i>	8	GG	21	20	3.5	38	0.324
	15	GA	32	30	16	49	
	3	AA	10	13	-22	42	
<i>Colesterol LDL</i>	8	GG	22	17	7	36	0.879
	15	GA	19	46	6	44	
	3	AA	9	15	-29	47	
<i>Colesterol HDL</i>	8	GG	-4.5	8	-11	2	0.705
	15	GA	-0.33	16	-9	8	
	3	AA	2	5	-11	15	
<i>Colesterol no HDL</i>	8	GG	25	17	10	40	0.395
	15	GA	29	28	13	46	
	3	AA	3.5	21	-13	22	
<i>triglicéridos</i>	8	GG	11	12	0.56	21	0.445
	15	GA	18	27	3	33	
	3	AA	-3	16	-120	140	

<i>Gen LIPC C-514T variante rs1800588</i>							
	<i>N</i>	<i>Variante genética</i>	<i>Media (mg/dl)</i>	<i>Desviación típica</i>	<i>intervalo confianza 95% (mg/dl)</i>		<i>Significación estadística</i>
					<i>Límite inferior</i>	<i>Límite superior</i>	
<i>Colesterol total</i>	<i>6</i>	<i>CC</i>	<i>10</i>	<i>17</i>	<i>-8</i>	<i>29</i>	<i>0.122</i>
	<i>13</i>	<i>CT</i>	<i>26</i>	<i>32</i>	<i>6</i>	<i>45</i>	
	<i>7</i>	<i>TT</i>	<i>41</i>	<i>12</i>	<i>29</i>	<i>52</i>	
<i>Colesterol LDL</i>	<i>6</i>	<i>CC</i>	<i>-14</i>	<i>50</i>	<i>-67</i>	<i>38</i>	<i>0.022</i>
	<i>13</i>	<i>CT</i>	<i>24</i>	<i>29</i>	<i>6</i>	<i>42</i>	
	<i>7</i>	<i>TT</i>	<i>36</i>	<i>9</i>	<i>27</i>	<i>45</i>	
<i>Colesterol HDL</i>	<i>6</i>	<i>CC</i>	<i>-9</i>	<i>23</i>	<i>-34</i>	<i>15</i>	<i>0.184</i>
	<i>13</i>	<i>CT</i>	<i>0</i>	<i>7</i>	<i>-4</i>	<i>4</i>	
	<i>7</i>	<i>TT</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>0</i>	<i>7.13</i>	
<i>Colesterol no HDL</i>	<i>6</i>	<i>CC</i>	<i>7</i>	<i>16</i>	<i>13</i>	<i>-28</i>	<i>0.114</i>
	<i>13</i>	<i>CT</i>	<i>27</i>	<i>29</i>	<i>8</i>	<i>45</i>	
	<i>7</i>	<i>TT</i>	<i>37</i>	<i>12</i>	<i>26</i>	<i>49</i>	
<i>triglicéridos</i>	<i>6</i>	<i>CC</i>	<i>14</i>	<i>19</i>	<i>-5</i>	<i>34</i>	<i>0.429</i>
	<i>13</i>	<i>CT</i>	<i>19</i>	<i>23</i>	<i>4</i>	<i>34</i>	
	<i>7</i>	<i>TT</i>	<i>5</i>	<i>26</i>	<i>-19</i>	<i>29</i>	

Gen PPAR-alpha L162V variante rs1800206

	N	Variante genética	Media (mg/dl)	Desviación típica	intervalo confianza 95% (mg/dl)		Significación estadística
					Límite inferior	Límite superior	
Colesterol total	22	CC	29.86	27	17	42	0.151
	4	CG	8	15	-16	33	
Colesterol LDL	22	CC	27	25	15	38	0.004
	4	CG	-27	57	-118	64	
Colesterol HDL	22	CC	1	7	-2	4	0.023
	4	CG	-14	27	-57	28	
Colesterol no HDL	22	CC	29	24	17	40	0.095
	4	CG	3	7	-21	14	
triglicéridos	22	CC	8	18	0.16	16	0.001
	4	CG	46	24	7	85	

<i>Gen APOA5 -1131T>C variante rs662799</i>							
	<i>N</i>	<i>Variante genética</i>	<i>Media (mg/dl)</i>	<i>Desviación típica</i>	<i>intervalo confianza 95% (mg/dl)</i>		<i>Significación estadística</i>
					<i>Límite inferior</i>	<i>Límite superior</i>	
<i>Colesterol total</i>	<i>24</i>	<i>TT</i>	<i>25</i>	<i>27</i>	<i>13</i>	<i>37</i>	<i>0.543</i>
	<i>2</i>	<i>TC</i>	<i>38</i>	<i>5</i>	<i>-12</i>	<i>88</i>	
<i>Colesterol LDL</i>	<i>24</i>	<i>TT</i>	<i>17</i>	<i>37</i>	<i>1</i>	<i>33</i>	<i>0.632</i>
	<i>2</i>	<i>TC</i>	<i>31</i>	<i>5</i>	<i>-19</i>	<i>81</i>	
<i>Colesterol HDL</i>	<i>24</i>	<i>TT</i>	<i>-1</i>	<i>13</i>	<i>-7</i>	<i>3</i>	<i>0.597</i>
	<i>2</i>	<i>TC</i>	<i>3</i>	<i>2</i>	<i>-15</i>	<i>22</i>	
<i>Colesterol no HDL</i>	<i>24</i>	<i>TT</i>	<i>25</i>	<i>25</i>	<i>13</i>	<i>36</i>	<i>0.630</i>
	<i>2</i>	<i>TC</i>	<i>34</i>	<i>7</i>	<i>35</i>	<i>104</i>	
<i>triglicéridos</i>	<i>24</i>	<i>TT</i>	<i>14</i>	<i>24</i>	<i>3</i>	<i>24</i>	<i>0.804</i>
	<i>2</i>	<i>TC</i>	<i>18</i>	<i>9</i>	<i>-64</i>	<i>101</i>	

Gen APOE Haplotipo APOE2/3/4 variante rs429358

	N	Variante genética	Media (mg/dl)	Desviación típica	intervalo confianza 95% (mg/dl)		Significación estadística
					Límite inferior	Límite superior	
Colesterol total	22	TT	23	20	14	33	0.227
	4	TC	41	51	-40	123	
Colesterol LDL	22	TT	21	19	13	30	0.343
	4	TC	2	89	-139	144	
Colesterol HDL	22	TT	0	6	-3	3	0.227
	4	TC	-8.75	31	-59	41	
Colesterol no HDL	22	TT	24	20	15	33	0.35
	4	TC	39	52	-91	170	
triglicéridos	22	TT	8	18	0.41	17	0.003
	4	TC	44	26	1	86	

Gen APOE Haplotipo APOE2/3/4 variante rs7412							
	N	Variante genética	Media (mg/dl)	Desviación típica	intervalo confianza 95% (mg/dl)		Significación estadística
					Límite inferior	Límite superior	
Colesterol total							
	5	TC	40	44	-15	95	0.227
	21	CC	23	21	13	32	
Colesterol LDL							
	5	TC	7	78	-89	104	0.343
	21	CC	21	20	12	30	
Colesterol HDL							
	5	TC	-6	28	-40	28	0.227
	21	CC	0.24	7	-3	2	
Colesterol no HDL							
	5	TC	37	43	-106	32	0.325
	21	CC	23	20	3	71	
Triglicéridos							
	5	TC	37	27	3	71	0.003
	21	CC	8	18	- 0.21	17	

7.- DISCUSIÓN:

Según demostramos en el análisis de resultados el uso de esteroides vegetales diluidos en leche desnatada es una herramienta adecuada para conseguir una disminución de lipoproteínas aterogénicas. Sin embargo debemos recordar que la finalidad de esta terapia es la disminución de la probabilidad de padecer eventos cardiovasculares en un futuro, por lo tanto debemos plantear algunas preguntas antes de afirmar que la ingestión de lácteos enriquecidos con esteroides vegetales son una buena herramienta para disminuir los factores de riesgo de ECV.

7.1.- ESTEROLES VEGETALES COMO AGENTES HIPOLIPEMIANTES

En 2014 la Sociedad Europea de Aterosclerosis (EAS) publicó un documento de consenso donde afirma que según la evidencia científica conocido hasta ese momento se podía recomendar el uso de alimentos enriquecidos con esteroides vegetales tanto en combinación con otros fármacos, así como en individuos con hipercolesterolemia por con bajo riesgo de ECV, asimismo se deben considerar en pacientes con baja tolerancia a las estatinas. Por último, teniendo en cuenta la posible prevención primaria que ejerce sobre la ECV sería interesante incluir los esteroides vegetales en la dieta, junto con cambios en hábitos de vida y tratamiento farmacológico si precisan, de pacientes con hipercolesterolemia familiar, tanto niños como adultos (40).

Estas recomendaciones se basan, entre otras cosas en los siguientes ensayos clínicos.

En 1956 Farquhar realizó el primer ensayo clínico conocido con esteroides vegetales, lo realizó con 15 hombres jóvenes que habían tenido infarto de miocardio. El ensayo se realizó en tres fases, en una primera fase se administró una dieta baja en grasas, en una

segunda fase se les administro entre 12 y 18 gr al día de esteroides vegetales en comprimidos, encontrando una importante disminuci3n en el LDL colesterol de 17% de media, m1s adelante se administr3 un comprimido placebo, indistinguible del comprimido que contenía esteroides vegetales, produciéndose una elevaci3n de los niveles de LDL a niveles parecidos a los niveles iniciales de LDL (82).

En un estudio realizado 39 ańos m1s tarde, en 1995 Miettinen realiza por primera vez un ensayo clínico con esteroides vegetales introducidos en alimentos, en este caso en una margarina vegetal, los pacientes tenían una hipercolesterolemia moderada con niveles medios de entre 156 mg/dl y 159 mg/dl y se consigui3 una bajada de entre 10-14% en los niveles sanguíneos de LDL colesterol (43).

Desde ese momento se han enriquecido con esteroides vegetales, adem1s de margarinas, una multitud de alimentos, como mayonesas, zumos comerciales, queso fresco, pan, galletas, muesli, yogures y lácteos.

El efecto hipocolesterolemiante es posiblemente dosis dependiente, en un metaanálisis realizado en 2014 se revis3 de forma exhaustiva 124 estudios sobre esteroides vegetales publicados hasta el momento. Se encuentra una relaci3n lineal entre la dosis y el porcentaje de disminuci3n de LDL colesterol. Encontrando con una dosificaci3n diaria de esteroides vegetales < 1 g/d, una bajada media en los estudios de 5.7% de LDL. Entre 1-1.5 g/d de esteroides una bajada media de 6.4 %. Entre 1.5-2 g/d una bajada media de 7.6%. Entre 2-2.5 g/d de esteroides una bajada media de 8.4%. Entre una dosis diaria de 2.5-3 g de esteroides vegetales una bajada media 10.3% y entre 3 y 4 g/d de esteroides vegetales se encuentra una disminuci3n media de 12.4% de colesterol LDL.

Existen muy pocos estudios controlados sobre dosis más elevadas de esteroides vegetales (83). Es posible que la dosis adecuada es la de 3 g/d, sin embargo en varias guías clínicas se ha recomendado la ingesta de 2 g/d, la razón posible de esta recomendación son las dificultades de ingestión de una 3 g/d de esteroides vegetales, al menos a las concentraciones a las que se encuentran los esteroides vegetales en los productos que hoy por hoy se encuentran a disposición del público (40).

Por otra parte es importante elegir bien la matriz alimentaria que vamos a usar para enriquecer con esteroides vegetales. Los alimentos que parecen más adecuados para enriquecer con esteroides vegetales son alimentos con alto contenido graso ya que diluyen mejor estos esteroides. Sin embargo el uso de emulsionantes como la lecitina permite usar como vehículo nutricional alimentos pobres en grasas (84).

Por otra parte existen emulsionantes que tienen efectos hipolipemiantes de forma independiente tales como ácido linoleico o ácido oleico. Por otra parte algunos alimentos tienen un efecto hiperlipemiante de forma independiente, tal como los ácidos grasos trans que se producen mediante la hidrogenación de ácidos grasos que ocurre durante los procesos industriales de fabricación de determinados alimentos, que aumentan los niveles sanguíneos de LDL colesterol.

Otro factor importante es el momento de ingestión del alimento enriquecido, ya que se supone que si se ingiere este alimento conjuntamente con alimentos con elevados contenidos de grasas la disminución de LDL colesterol será mayor (84).

Hasta este momento la mayor parte de los estudios se han realizado con margarinas enriquecidas con esteroides, la margarina es versátil ya que los esteroides vegetales presentan una buena solubilidad en este medio. Los tres estudios que han presentado

mayor disminución del LDL sanguíneo (> 15%) son aquellos en las que la margarina tenían más cantidad de grasa, los ensayos realizados con margarinas con bajo porcentaje de materia grasa han producido bajadas de colesterol de solo 5-6% (85,86). Sin embargo la margarina puede producir aumentos del nivel de LDL que enmascaren parte del efecto de los esteroides vegetales (84).

Otro alimento que se ha probado como vehículo son las mayonesas, las cantidades diarias consumidas han sido más bajas que las cantidades consumidas con otros productos (entre 0.3 y 05 g/d) sin embargo se han conseguido disminuciones entre 8 y 15% de LDL. Gracias a estos estudios podemos especular que usar la mayonesa como matriz para los esteroides vegetales puede proporcionar una mayor eficacia del producto. Sin embargo son necesarios más estudios para conocer de forma adecuada la disminución de la hipercolesterolemia que se produce con mayonesas enriquecidas con esteroides vegetales (87).

Existen estudios donde se han enriquecido con esteroides vegetales patatas fritas, con una disminución de un 15 % de colesterol LDL (1.5 g/d de esteroides vegetales), los mismos resultados se obtuvieron al enriquecer carne con esteroides vegetales. Resultados más modestos se han conseguido añadiendo esteroides vegetales a barritas de chocolate o bebidas (84).

Varios estudios se han realizado usando yogur como alimento enriquecido con esteroides. En la mayoría de estos estudios se consiguen disminuciones mayores del 10 % del LDL colesterol sanguíneo (89,90,91,92,93,94).

Pocos estudios se han realizado usando el queso como alimento enriquecido con esteroides vegetales, en ellos se vieron reducciones de 11% en el porcentaje de los LDL sanguíneos de los pacientes que lo probaron (95).

Por último existen varios ensayos clínicos realizados con leche enriquecida con esteroides vegetales.

En el ensayo liderado por Bañuls, se administraron a cuarenta participantes 2 gramos al día de esteroides vegetales durante 3 meses, en este estudio los esteroides vegetales procedían de aceite de girasol y contenían 70% de beta sitosteroides, 15% de campesterol y 10 % de beta sitostanoles. El resultado fue una disminución de entre 7-10% en los niveles sanguíneos de LDL (96).

En otro estudio realizado por Petrogianni, en ciento quince pacientes durante 3 meses, se administraron 3 gramos al día de esteroides vegetales se describió una mejoría estadísticamente significativa en la relación LDL /HDL en los pacientes que consumían esteroides vegetales (97).

En el estudio realizado por Hernández Mijares, se consiguió una bajada en colesterol LDL de entre 7% y 9.6%, independientemente de tener una dieta libre o una dieta saludable, lo cual demuestra que la ingestión de fitosteroides en lácteos disminuye los niveles de LDL independientemente de la dieta realizada. En este estudio se administraron 2 gramos diarios de esteroides vegetales diluidos en leche desnatada, estos esteroides se componían de beta sitosteroides(70%) , campesteroides (15%), beta sitostanoles (9 %), brasicasteroides (2%), campestanos (1%) y stigmasteroides (1%). Estos esteroides fueron obtenidos de aceite de girasol (98).

En el estudio realizado por Casas Agustench se comparó el efecto producido por leche desnatada y semidesnatada enriquecida con esteroides vegetales, consiguiendo una disminución de entre 7% y 8% del LDL, en este estudio se ingirieron también 2 gramos al día de esteroides. Estos esteroides procedían de aceite de girasol y contenían 78% de sitosteroides, 9% de sitostanoles, 7% de campesterol, 1 % de stigmasterol y 1% de campestanol (99).

Por último estudios realizados con esteroides vegetales usando la misma fórmula que se ha usado en el estudio que estamos presentando para diluir esteroides vegetales en leche desnatada, realizados por Padro y San Mauro han demostrado una disminución de 7.3% y 12.5% en la disminución del LDL colesterol (58,100).

Los ensayos clínicos realizados en población pediátrica son mucho menos frecuentes. En esta población se han usado comprimidos con esteroides vegetales, y alimentos como cremas para untar, margarinas y yogures enriquecidos con esteroides vegetales.

Los primeros ensayos clínicos realizados con esteroides vegetales en pacientes pediátricos se realizaron en 1993, este ensayo se realizó en niños con hipercolesterolemia familiar grave. Se administraron 6 mg al día de esteroides vegetales en comprimidos (3 veces al día) durante 3 meses, se consiguieron bajadas de entre 20% y 33% en el LDL colesterol, no se describieron efectos secundarios durante el ensayo (101).

Estudios posteriores realizados en 1995 por Gylling y su equipo realizaron por primera vez un ensayo clínico en niños con alimento funcional enriquecido con esteroides vegetales, en este caso fue una margarina, producto que fue usado en un ensayo anterior en adultos consiguiendo una bajada de colesterol LDL de entre 10-15%. En

este ensayo se ingirieron 3 g/día de esteroides vegetales en pacientes pediátricos con hipercolesterolemia familiar, el ensayo duró 6 semanas y fue cruzado. Se consiguieron disminuciones de 15% en colesterol LDL, no presentando disminución significativa en los niveles de HDL o triglicéridos (52).

En otro estudio realizado por el mismo equipo, y con la misma margarina se probó la efectividad en una población infantil con una variante de la hipercolesterolemia familiar denominada Hipercolesterolemia familiar variante Norte de Karelia (FH-NK), mutación típica de una región aislada y con muy poca población que se encuentra al este de Finlandia, y que limita al este con Rusia llamada Karelia del Norte. En este caso se consiguieron unas reducciones medias de 17.9% de LDL tras 12 semanas de consumo de este producto (53).

En otro estudio realizado por Tammi y su equipo se valoró el efecto de esteroides vegetales diluidos en margarinas en niños sanos, se administraron 2 gr/d de esteroides diluidos en margarinas consiguiendo disminuciones de entre 4 y 6 % en el LDL. No se encontró diferencias significativas en la respuesta entre géneros ni entre los fenotipos de apolipoproteína E. No se registraron efectos secundarios (49).

En otro estudio realizado en 1999 con pacientes sanos en periodo preescolar (entre 2 y 5 años), se administró durante 4 semanas una crema para untar rica en esteroides vegetales, produciendo una disminución del LDL colesterol en 15.5%, no se produjeron efectos secundarios en este ensayo (48).

En otro ensayo clínico realizado con una crema para untar parecida a la anterior, consumiendo entre 1.5g y 2 g al día de esteroides vegetales, y ensayado en 38 pacientes

pediátricos con hipercolesterolemia familiar durante 8 semanas se consiguió una disminución media de 10.2% en el colesterol LDL (54).

Otro estudio de 5 semanas de duración realizado por el mismo grupo demostró disminuciones de entre 9% y 12% en pacientes pediátricos con hipercolesterolemia de cualquier tipo (no solo hipercolesterolemia familiar), tampoco se describieron efectos secundarios (56).

Por último un estudio realizado en niños usando de nuevo una crema para untar enriquecida con esteroides en pacientes pediátricos con hipercolesterolemia familiar durante 4 semanas en pacientes con hipercolesterolemia familiar, administrando 2.3 g/día de esteroides vegetales se consigue una disminución de LDL de 14%. Sin embargo no se aprecian cambios en la dilatación mediada por flujo, es decir la complianza arterial en la carótida. Lo cual quiere decir que una disminución de LDL colesterol no se acompañó en este caso de disminución en uno de los marcadores indirectos de ECV, sin embargo debemos recordar que la duración tan corta de este ensayo, 4 semanas, es posiblemente un tiempo insuficiente para poder valorar un cambio morfológico en las arterias braquiales (55).

Por último existen tres estudios en población pediátrica que se han realizado con yogures enriquecidos con esteroides vegetales.

El primer estudio con esteroides vegetales diluidos en yogur realizado en niños fue realizado por Guardamagna que realizó su ensayo durante 12 semanas con 32 niños con hipercolesterolemia familiar, 13 niños con hipercolesterolemia familiar combinada y 13 niños con hipercolesterolemia indefinida. Consiguiendo una disminución de LDL de 10.7% de media en el grupo de hipercolesterolemia familiar, 14.2% en el grupo de

hipercolesterolemia familiar combinada y 16% en el grupo de hipercolesterolemia combinada (50).

En un ensayo realizado también con esteroides vegetales diluidos en yogur administrados durante 4 semanas en pacientes con hipercolesterolemia familiar, donde se administraban 2 g/día se demostró una disminución de LDL de 9.2%. Sin embargo en este estudio no se demostró una disminución de complianza arterial, posiblemente, igual que en el estudio arriba mencionado realizado por de Jong (55) por el corto tiempo de tratamiento (57).

El último estudio que ha sido publicado sobre uso de esteroides vegetales en ensayo clínico para disminuir la hipercolesterolemia aterogénica, según nuestro conocimiento, ha sido realizado por Garoufi, y publicado en mayo de 2014. En este estudio se usaron esteroides vegetales diluidos en yogur. La dosis de esteroides diaria fue de 2 g/d. Se realizó con 59 pacientes pediátricos con hipercolesterolemia consiguiendo una disminución media de 13% en el porcentaje colesterol LDL. El ensayo duró entre 6 y 12 meses. No se registraron efectos secundarios en este ensayo (102).

Este ensayo es el primer ensayo, según nuestro conocimiento, de esteroides vegetales diluidos en leche realizado en población pediátrica. Nuestros porcentajes de disminución de colesterol LDL, un 16 % coincide con otros estudios realizados en niños, con otros productos alimentarios usados como vehículo.

La seguridad de los esteroides vegetales ha sido demostrada en varios ensayos clínicos en donde no han aparecido efectos secundarios de importancia. Gran parte de estos estudios han sido realizados con una dosis diaria de entre 1 y 3 gramos al día de

esteroles vegetales. Por otra parte existen varios productos comercializados con esteroides vegetales sin que se hayan descrito efectos secundarios importantes.

El panel de expertos de la sociedad europea de aterosclerosis, responsable del documento de consenso publicado en 2014 (40) refiere que en los estudios existentes realizados en pacientes que consumen esteroides de forma continuada no se han encontrado efectos adversos (103,104).

En algunos ensayos, sin embargo, se encontraron ligeras disminuciones de hasta 10% de carotenoides plasmáticos, sobre todo en los niveles de carotenoides altamente lipofílicos, tales como el beta caroteno, alfa caroteno y licopenos. Posiblemente este efecto se produce por la interferencia en la absorción intestinal de estos carotenoides, ya que estos carotenoides posiblemente se absorban gracias a la formación de micelios intraluminales, al igual que el colesterol, al interferir los esteroides vegetales en la formación de estos micelios, posiblemente interfieran en la absorción de los carotenoides. Estos posibles efectos pueden ser contrarrestados aumentando la cantidad de vegetales y frutas consumidas mientras se consumen esteroides vegetales (105,106).

Por otra parte existen algunos estudios en animales que inducen a pensar en un efecto antitumoral que presentan los esteroides vegetales, los posibles mecanismos, basados en estos modelos animales sugieren acciones directas sobre la apoptosis, o acciones indirectas debido al efecto hipolipemiante de estas sustancias (107).

Se puede concluir por lo tanto que estas sustancias presentan una seguridad suficiente para ser usadas por la población general.

En nuestro ensayo ningún niño ha presentado efectos secundarios de ningún tipo durante la realización del estudio.

7.2.- VARIABILIDAD DE RESPUESTA A ESTEROLES VEGETALES SEGÚN VARIANTES GENÉTICAS

En ensayos anteriores se relacionaron diferentes variantes genéticas con diferentes respuestas a la administración de esteroides vegetales.

En el estudio de la Dra De Castro Oros, publicado en 2011, se estudió esta respuesta de los esteroides vegetales, administrando entre 2 y 3.2 gramos al día en forma de magdalenas o leche desnatada enriquecida con esteroides vegetales, en relación con las variaciones del gen CYP7A1 (rs3808607), responsable de la síntesis de la 7 alfa hidroxilasa, enzima que participa en la síntesis de ácidos biliares. Se demostró diferencias estadísticamente significativas entre las variables AA, que tuvo una disminución media de 2.6% de colesterol total y las variables AC y CC que tuvieron una disminución media de de 6.7 % de colesterol total. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el resto de parámetros (108).

En el ensayo de Ana Lotenberg se estudió la respuesta a esteroides vegetales administrados en margarinas vegetales de pacientes con hipercolesterolemia según los polimorfismos de la Proteína I405V Colesteril ester transferasa encontrando que el fenotipo II de dicha proteína presenta una disminución de 9.5 % del LDL colesterol, no presentando dicha reducción los otros dos polimorfismos estudiados (IV y VV) (109).

En ensayo realizado por Zhao, en el que se administraron 2 gramos al día de esteroides diluidos en barritas de cereales, se estudiaron los polimorfismos del haplotipo 872 C>G

y el haplotipo 3929 G>A del gen NPC1L1 mostraron una reducción 2.4 veces mayor de LDL, comparado con los portadores de otras variantes de este gen (110).

En las investigaciones realizadas por Sánchez-Muñiz se realizó un ensayo clínico se administró entre 1.1 y 2.2 gramos al día de esteroides vegetales en cereales enriquecidos con esteroides vegetales, se midió la disminución de LDL según el tipo de alelo de Apolipoproteína E, el colesterol LDL disminuyó más en sujetos con el alelo E2, respecto a los alelos E3 y E4. Los niveles de triglicéridos disminuyeron, asimismo, más en sujetos con el alelo E2 respecto a los otros alelos (111).

Sin embargo en un estudio reciente Mackay et al en donde se administraban 2 gramos por día de esteroides vegetales se valoró la combinación de genes, se midieron los alelos de la APOE , combinados con el gen *CYP7A1-rs3808607*. Se encontró una mayor disminución de este último gen cuando se asociaba a al polimorfismo APOE4 que al APOE3 (112).

Por último en un estudio donde se midió la influencia genética sobre la disminución de triglicéridos sanguíneos con esteroides vegetales (2 gramos al día) entre individuos con polimorfismo del SNP r5882 del gen de la colesterol ester transferasa, encontrándose mayor disminución de triglicéridos en portadores homocigotos del gen (113).

7.2.1.- APOLIPOPROTEÍNA A5

Las variantes de la ApoA5, cuyo gen se ubica en el cromosoma 11, no han mostrado en muchos estudios una relación clara respecto al riesgo de enfermedad coronaria. Sin embargo, al influir sobre los niveles de TG en plasma, se ha podido establecer por medio de metaanálisis que la variante -1131CT>C del gen, concretamente el alelo C,

constituye un factor de riesgo de cardiopatía y de accidente cerebrovascular isquémico al incrementar los niveles de TG. Este polimorfismo presenta una asociación significativa con el riesgo de enfermedad coronaria (114).

El rs3135506 es una variación de nucleótido simple C/G de este gen.

En nuestro análisis encontramos una disminución media de triglicéridos sanguíneos tras el ensayo de 20 mg/dl en pacientes que presentan la variante homocigota del gen GG (trp/trp), sin embargo los pacientes que presentan la variante heterocigota CG (Ser/Trp) presentan un aumento medio de 18 mg/dl de triglicéridos. El resto de datos respecto a este gen no presentan datos estadísticamente significativos respecto a la variabilidad del gen.

7.2.2.- Gen LIPC C-514T

El gen lipasa C hepática (LIPC), situado en el cromosoma 15 y encargado de la hidrólisis de TG, cuya relación e influencia sobre el colesterol HDL no se ha establecido claramente, aunque parezca ser una relación de tipo inverso. La influencia que este gen presenta sobre el metabolismo de los glicerofosfolípidos podría también modificar las concentraciones plasmáticas de los mismos. En niños el polimorfismo -514T se ha relacionado con niveles más elevados de HDL (114).

La rs1800588 es una variación C/T en este gen.

En nuestro ensayo los niveles medio de LDL colesterol en los portadores de la variante wildtype (CC) tras el ensayo aumentaron de media un 14 mg/dl. Disminuyendo en un 24 mg/dl y 36 mg/dl respectivamente en los portadores de las variantes heterocigota CT y homocigota TT.

7.2.3.- Gen PPAR-alpha L162V

El gen PPARG, ubicado en el cromosoma 3, codifica para un receptor nuclear encargado de regular la diferenciación de los adipocitos. Aunque los resultados en líneas generales son inconsistentes, algunos estudios establecen cierta relación entre el gen PPARG y el desarrollo de hipertensión en individuos asiáticos. En el caso de la población infantil, el polimorfismo Pro/Ala del gen se asocia con un aumento del índice de masa corporal (IMC) en niños en tratamiento con hormona del crecimiento. Sin embargo, como ocurre en la población adulta, no parece existir una relación con el aumento del riesgo cardiovascular ni antes ni durante el tratamiento.

La variante rs1800206 es una variación de nucleótido simple C/G.

En nuestro ensayo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la respuesta a varios lipoproteínas sanguíneas tras el consumo de esteroides vegetales cuando separamos los pacientes por genes. Los pacientes presentaron una disminución media de 27 mg/dl de LDL colesterol en la variante salvaje CC (L/L), y un aumento medio de LDL de 27 mg/dl en la variante heterocigota CG (L/V). Por otra parte la variante salvaje CC (L/L) presentó una disminución de 1 mg/dl de media de HDL colesterol, la variante heterocigota CG (L/V) presentó sin embargo un aumento de HDL colesterol de 14 mg/dl. Por otra parte la variedad salvaje CC (L/L) presentó un descenso medio de triglicéridos sanguíneos de 46 mg/dl, presentando la variedad heterocigota CG (L/V) un descenso medio de 8.38 mg/dl de triglicéridos sanguíneos.

7.2.4.- Gen APOE Haplotipo APOE 2/3/4

Las ApoE forman parte de los quilomicrones, por lo que se unen a receptores celulares periféricos y específicos del hígado y juegan un papel esencial en el catabolismo de las lipoproteínas ricas en TG. Los individuos con el alelo $\epsilon 2$ no presentan un riesgo significativo de IC ni de hipertensión frente a los portadores del alelo $\epsilon 3$. El alelo $\epsilon 2$ sí podría ser un factor de riesgo moderado de DM tipo 2, con las implicaciones que esta enfermedad conlleva sobre el riesgo cardiovascular. Además, este alelo se relaciona débilmente con alteraciones en los niveles de colesterol total, en las LDL y en las HDL. Algunos estudios llevados a cabo en población infantil han determinado que los niños y las niñas portadores de los alelos E2 y E3 presentan niveles inferiores de colesterol total, TG, LDL y de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL); al mismo tiempo, reflejan valores más altos de HDL. Esto se ha relacionado con cierto efecto protector para estas variantes alélicas, contrario al ejercido por E4. Continuando con población infantil, se ha observado que los varones portadores de este último alelo mostraban valores más altos de colesterol total, LDL, TG y VLDL, y más bajos de HDL. Todo ello se traduce en un mayor potencial aterogénico para esta variante. En pacientes con DM tipo 1 se asoció además con un mayor grosor de la capa íntima de la arteria carótida. Por lo tanto, en lo que respecta a los ApoE se ha observado que el alelo $\epsilon 4$ de las ApoE4 constituye un factor de riesgo importante de enfermedad coronaria. Sin embargo, no se observan los mismos resultados en el caso de las ApoE2, cuyos polimorfismos no parecen relacionarse con riesgo coronario de manera significativa (114).

Los rs429358 es una variación de un nucleótido C/T y rs7412 es otra variación de un nucleótido CT del mismo gen.

Respecto a la variable rs429358 la media de disminución de triglicéridos en la variante wildtype (TT) fue de 8.81 mg/dl, mientras que en la variante heterocigota TC fue de 44 mg/dl.

En la variante rs7412 la media de disminución de triglicéridos en la variante salvaje TT fue de 37.6 mg/dl, siendo este descenso de 8.65 mg/dl en la variante heterocigota TC.

Todas estas variaciones en las medias fueron estadísticamente significativas.

En definitiva los esteroles vegetales producen mayor bajada de LDL colesterol en los portadores de las variantes heterocigota (CT) y homocigota (TT) del rs1800588 del gen LIPC C-514T; y portadores salvaje homocigoto CC (L/L) del rs1800206 del gen PPAR-alpha L162V. Una mayor subida del HDL en los que poseen la variante heterocigota C/G del rs1800206 del gen PPAR-alpha L162V. Y una mayor bajada de triglicéridos en los portadores de variante homocigota del gen GG (trp/trp) del rs3135506 del gen de la APOLIPOPROTEÍNA A5, la variedad salvaje CC (L/L) del rs1800206 del gen PPAR-alpha L162V, y de la variable heterocigota TC, y salvaje TT de rs429358 y rs7412 respectivamente del gen APOE Haplotipo APOE 2/3/4.

Siendo por lo tanto el análisis de estos genes una adecuada estrategia para intentar predecir la respuesta a esteroides vegetales.

8.- CONCLUSIONES

1.- Concluimos en definitiva mediante este ensayo clínico que los esteroides vegetales son una medida eficaz y segura para disminuir las lipoproteínas aterogénicas, disminuyendo de media el colesterol total en 11.08%, el colesterol LDL en 18.29% y el colesterol no-HDL en un 14%. Todas estas disminuciones son estadísticamente significativas.

2.- Por otra parte se produce una disminución en los niveles de triglicéridos, pero no es estadísticamente significativa. Por último los niveles de HDL colesterol permanecen prácticamente invariables.

3.- Respecto a la variabilidad genética encontramos diferencias en la respuesta a la administración de esteroides vegetales según se sea portador de variables alélicas de algunos genes.

3.1.- Los portadores de la variante homocigota (GG) del rs3135506 del gen ApolipoproteínaA5 presentan diferente respuesta a esteroides vegetales respecto a los triglicéridos (disminución media 20 mg/dl) respecto a los portadores de la variante heterocigota(CG) (aumento medio de 18 mg/dl).

3.2.- Los portadores de la variante CC del rs1800588 del Gen LIPC C-514T presentan una respuesta a esteroides con un aumento medio de 14% en el colesterol LDL, presentando una disminución de 24% en la variedad CT y 36% en la variedad TT.

3.3.- Los portadores de la variante CC (L/L) del rs1800206 del Gen PPAR-alpha L162V presentaron una disminución media de 27 mg/dl de LDL colesterol una disminución media de 1 mg/dl de HDL colesterol y un descenso medio de triglicéridos sanguíneos

de 46 mg/dl. Por otra parte los portadores de la variante CG presentaron un aumento medio de LDL de 27 mg/dl, un aumento medio de HDL colesterol de 14 mg/dl y un descenso medio de 8.36 mg/dl de triglicéridos sanguíneos.

3.4.- Los portadores de la variante salvaje del rs7412 del Gen APOE Haplotipo APOE 2/3/4 tuvieron mayor media de disminución de triglicéridos (37.6 mg/dl) que la variante heterocigota (8.65 mg/dl).

3.5.- Por último, los portadores de la variante heterocigota (TC) del rs429358 del gen APOE Haplotipo APOE 2/3/4 tuvieron mayor media de disminución de triglicéridos (44 mg/dl) que la variante salvaje (8.81 mg/dl).

Bibliografía:

- 1.- Zhao X MD. Pathogenesis of atherosclerosis in UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (consultado el 25 de Diciembre, 2016). Disponible en www.uptodate.com
- 2.- Blumenfeld Olivares JA, San Mauro Martín I.Calle ME, Et al. Leche enriquecida con esteroides vegetales como estrategia para conseguir una disminución de la trigliceridemia en la infancia; ensayo clínico doble ciego, aleatorizado y controlado. Nutr Hosp. 2015;32:1056-1060.
- 3.- Nick Townsend, Melanie Nichols, Peter Scarborough, Mike Rayner. Cardiovascular disease in Europe — epidemiological update 2015. European Heart Journal Oct 2015; 36: 2696-2705.
- 4.- Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. Lancet 2004; 364:937.
- 5.- Patel SA, Winkel M, Ali MK, et al. Cardiovascular mortality associated with 5 leading risk factors: national and state preventable fractions estimated from survey data. Ann Intern Med 2015; 163:245.
- 6.- Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents, National Heart, Lung, and Blood Institute. Expert panel on

integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. Pediatrics 2011; 128 Suppl 5:S213.

7.- Feingold KR, Grunfeld C. Introduction to Lipids and Lipoproteins. [Updated 2015 Jun 10]. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-2017.

8.- Rosenson RS, de Ferranti S, Durrington P. Inherited disorders of LDL-cholesterol metabolism UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (consultado el 11 de enero, 2016), disponible en www.uptodate.com.

9.- Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, et al; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Circulation. 2014;129(25 suppl 2):S1–S45

10.- Pignone M. Treatment of lipids (including hypercholesterolemia) in primary prevention in UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (consultado el 4 de enero de 2017. Disponible en www.uptodate.com-

11.- Williams RR, Hopkins PN, Hunt SC, et al. Population-based frequency of dyslipidemia syndromes in coronary-prone families in Utah. Arch Intern Med 1990; 150:582.

- 12.- Prognostic value of non-high-density lipoprotein cholesterol for mortality in patients with coronary heart disease: A systematic review and meta-analysis. Liao P., Zeng R., Zhao X., Guo L., Zhang M. International Journal of Cardiology, 2017; 227: 950-955
- 13.- McMahan CA, Gidding SS, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP, McGill HC, Jr. Pathobiological determinants of atherosclerosis in youth risk scores are associated with early and advanced atherosclerosis. Pediatrics 2006; 118: 1447-1455
- 14.- Juonala M, Viikari JS, Rönkämaa T, Marniemi J, Jula A, Loo BM, Raitakari OT. Associations of dyslipidemias from childhood to adulthood with carotid intima-media thickness, elasticity, and brachial flow-mediated dilatation in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2008; 28: 1012-1017.
- 15.- Kieltyka L, Urbina EM, Tang R, Bond MG, Srinivasan SR, Berenson GS. Framingham risk score is related to carotid artery intima-media thickness in both white and black young adults: the Bogalusa Heart Study. Atherosclerosis 2003; 170: 125-130.
- 16.- Morrison JA, Friedman LA, Gray-McGuire C. Metabolic syndrome in childhood predicts adult cardiovascular disease 25 years later: the Princeton Lipid Research Clinics Follow-up Study. Pediatrics 2007; 120: 340-345.
- 17.- Morrison JA, Friedman LA, Wang P, Glueck CJ. Metabolic syndrome in childhood predicts adult metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus 25 to 30 years later. J Pediatr 2008; 152: 201-206.

- 18.- Rodenburg J, Vissers MN, Wiegman A, Trotsenburg ASP, van der Graaf A, de Groot E, Wijburg FA, Kastelein JJP, Hutten BA. Statin treatment in children with familial hypercholesterolemia: the younger the better. *Circulation* 2007;116:664-668
- 19.- US Preventive Services Task Force. Screening for Lipid Disorders in Children and Adolescents: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*. 2016 Aug 9;316:625-33.
- 20.- Morais A, Lama R, Dalmau S y Comité de Nutrición de la AEP. Hipercolesterolemia. Abordaje terapéutico. *An Pediatr (Barc)*. 2009; 70: 488-96.
- 21.- Morais A, Lama R, Dalmau S y Comité de Nutrición de la AEP. Hipercolesterolemia. Abordaje terapéutico. *An Pediatr (Barc)*. 2009; 70: 488-96. 16.
- 22.- Muñoz MT, Barrios V, Pozo J, Argente J. Influencia del tratamiento dietético sobre el crecimiento en niños con dislipemias primarias. *Clin Invest Arterioesclerosis*. 1998; 10: 65-73.
- 23.- Muñoz MT. Dislipemias. *Pediatr Integral* 2015; XIX: 355-364.
- 24.-Ebbeling CB, Leidig MM, Feldman HA, Lovesky MM, Ludwig DS.Effects of a low glycemic-load vs low fat diet in obese young adults.*JAMA* 2007;297:2092-2102.
- 25.-Ebbeling CB, Leidig MM, Sinclair KB, Hangen JP, Ludwig DS. A reduced glycemic load diet in the treatment of adolescent obesity.*Arch Pediatr Adolesc Med* 2003;157:773-779.

- 26.- Sondike SB, Copperman N, Jacobson MS. Effects of a low-carbohydrate diet on weight loss and cardiovascular risk factors in overweight adolescents. *J Pediatr* 2003;142:253-258.
- 27.- de Ferranti S, Newburge J. Dyslipemia in children: management. UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 6 de enero del 2017). Disponible en www.uptodate.com.
- 28.- Read, SM, Bacic, T. Plant biology. Prime time for cellulose. *Science* 2002; 295:59-60
- 29.- Ostlund, RE, Jr. Phytosterols in human nutrition. *Annu Rev Nutr* 2002; 22: 533-549.
- 30.- Morton, GM, Lee, SM, Buss, DH, Lawrance, P. Intakes and major dietary sources of cholesterol and phytosterols in the British diet. *J Hum Nutr Diet* 1995; 8: 429-440.
- 31.- Ostlund, RE, Jr., McGill, JB, Zeng, CM. y cols. Gastrointestinal absorption and plasma kinetics of soy Delta(5)-phytosterols and phytostanols in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 282: E911-916
- 32.- Bhattacharyya, AK. Uptake and esterification of plant sterols by rat small intestine. *Am J Physiol* 1981; 240: G50-55
- 33.- Duan, LP, Wang, HH, Wang, DQ. Cholesterol absorption is mainly regulated by the jejunal and ileal ATP-binding cassette sterol efflux transporters Abcg5 and Abcg8 in mice. *J Lipid Res* 2004; 45: 1312-1323

34.- Lee, MH, Lu, K, Patel, SB. Genetic basis of sitosterolemia. *Curr Opin Lipidol* 2001; 12: 141-149

35.- Björkhem I., Boberg K.M., Leitersdorf E. Inborn errors in bile acid biosynthesis and storage of sterols other than cholesterol. In: Scriver C.R., Beaudet A.L., editors. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th Ed. McGraw-Hill; New York, NY, USA: 2001. pp. 2961–2988.

36.- Armstrong M.J., Carey M.C. Thermodynamic and molecular determinants of sterol solubilities in bile salt micelles. *J. Lipid Res.* 1987;28:1144–1155.

37.- Ikeda I., Tanaka K., Sugano M., Vahouny G.V., Gallo L.L. Inhibition of cholesterol absorption in rats by plant sterols. *J. Lipid Res.* 1988;29:573–582.

38.- Nissinen M., Gylling H., Vuoristo M., Miettinen T.A. Micellar distribution of cholesterol and phytosterols after duodenal plant stanol ester infusion. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2002;282:G1009–G1015.

39.- Gylling H, Simonen P. Phytosterols, Phytostanols, and Lipoprotein Metabolism. *Nutrients*. 2015;7:7965-7977.

40.- Gylling H, Plat J, Turley S, et al.; European Atherosclerosis Society Consensus Panel on Phytosterols. Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2014 Feb;232:346-60

41.- Lin X., Racette S.B., Lefevre M., et al: The effects of phytosterols present in natural food matrices on cholesterol metabolism and LDL-cholesterol: a controlled feeding trial. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64: 1481-1487

42.- Farquhar J.W., Smith R.E., and Dempsey M.E.: The effect of beta sitosterol on the serum lipids of young men with arteriosclerotic heart disease. *Circulation* 1956; 14: 77-82

43. Miettinen T.A., Puska P., Gylling H., Vanhanen H., and Vartiainen E. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *N Engl J Med* 1995; 333: 1308-1312

44. Katan M.B., Grundy S.M., Jones P., Law M., Miettinen T., and Paoletti R.: Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clin Proc* 2003; 78: 965-978

45. Demonty I., Ras R.T., van der Knaap H.C., et al: Continuous dose-response relationship of the LDL-cholesterol-lowering effect of phytosterol intake. *J Nutr* 2009; 139: 271-284

46.- Musa-Veloso K., Poon T.H., Elliot J.A., and Chung C.: A comparison of the LDL-cholesterol efficacy of plant stanols and plant sterols over a continuous range: Results of a meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2011; 85: 9-28

47.- Demonty I., Ras R.T., and Trautwein E.A.: Comment on: "A comparison of the LDL-cholesterol lowering efficacy of plant stanols and plant sterols over a continuous dose range: results of a meta-analysis of randomized, placebo controlled trials" by Musa-Veloso K, Poon T H, Elliot JA, Chung C. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2011;85:9–28. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2011; 85: 7-8

- 48.- Williams C.L., Bollella M.C., Strobino B.A., Boccia L., and Campanaro L.: Plant stanol ester and bran fiber in childhood: effects on lipids, stool weight and stool frequency in preschool children. *J Am Coll Nutr* 1999; 18: 572-581
- 49.- Tammi A., Rönnemaa T., Miettinen T.A., et al: Effects of gender, apolipoprotein E phenotype and cholesterol-lowering by plant stanol esters in children: The STRIP study. *Acta Paediatr* 2002; 91: 1155-1162
- 50.- Guardamagna O., Abello F., Baracco V., et al: Primary hyperlipidemias in children: effect of plant sterol supplementation on plasma lipids and markers of cholesterol synthesis and absorption. *Acta Diabetol* 2011; 48: 127-133
- 51.- Becker M., Staab D., and von Bergmann K.: Treatment of severe familial hypercholesterolemia in childhood with sitosterol and sitostanol. *J Pediatr* 1993; 122: 292-296
- 52.- Gylling H., Siimes M.A., and Miettinen T.A.: Sitostanol ester margarine in dietary treatment of children with familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 1995; 36: 1807-1812
- 53.- Vuorio A.F., Gylling H., Turtola H., Kontula K., Ketonen P., and Miettinen T.A.: Stanol ester margarine alone and with simvastatin lowers serum cholesterol in families with familial hypercholesterolemia caused by the FH-North Karelia mutation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 500-506

- 54.- Amundsen A.L., Ose L., Nenseter M.S., and Ntanios F.Y.: Plant sterol ester-enriched spread lowers plasma total and LDL cholesterol in children with familial hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 338-344
- 55.- de Jongh S., Vissers M.N., Rol P., Bakker H.D., Kastelein J.J., and Stroes E.S.: Plant sterols lower LDL cholesterol without improving endothelial function in prepubertal children with familial hypercholesterolemia. *J Inherit Metab Dis* 2003; 26: 343-351
- 56.- Ketomäki A.M., Gylling H., Antikainen M., Siimes M.A., and Miettinen T.A.: Red cell and plasma plant sterols are related during consumption of plant stanol and sterol ester spreads in children with hypercholesterolemia. *J Pediatr* 2003; 142: 524-531
- 57.- Jakulj L., Vissers M.N., Rodenburg J., Wiegman A., Trip M.D., and Kastelein J.J.: Plant stanols do not restore endothelial function in prepubertal children with familial hypercholesterolemia despite reduction of low-density lipoprotein cholesterol levels. *J Pediatr* 2006; 148: 495-500
- 58.- San Mauro-Martín I, Collado-Yurrita L, Blumenfeld-Olivares JA, Cuadrado-Cenzual MÁ, Calle-Purón ME, Hernández-Cabria M, Garicano-Vilar E, Pérez-Arruche E, Arce-Delgado E, CiudadCabañas MJ.Efecto de esteroides vegetales en la reducción del colesterol plasmático: ensayo clínico, controlado, aleatorizado, cruzado y doble ciego.*Nutr Hosp.* 2016 Jun 30;33:279.

59.- Rideout TC, Chan YM, Harding SV, Jones PJ. Low and moderate-fat plant sterol fortified soymilk in modulation of plasma lipids and cholesterol kinetics in subjects with normal to high cholesterol concentrations: report on two randomized crossover studies. *Lipids Health Dis* 2009; 8:45

60.-Rideout, Todd C. Getting personal: considering variable interindividual responsiveness to dietary lipid-lowering therapies.*Curr Opin Lipidol*. 2011 Feb;22:37-42

61.- Rideout TC, Harding SV, Mackay D, et al. High basal fractional cholesterol synthesis is associated with nonresponse of plasma LDL cholesterol to plant sterol therapy. *Am J Clin Nutr* 2010; 92:41–46

62.- MacKay DS, Eck PK, Gebauer SK, Baer DJ, Jones PJ. CYP7A1-rs3808607 and APOE isoform associate with LDL cholesterol lowering after plant sterol consumption in a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr*. 2015 Oct;102:951-7

63.- American Academy of Pediatrics. National Cholesterol Education Program: Report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. *Pediatrics*. 1992 Mar;89(3 Pt 2):525-84

64.- Napoli C, D'Armiento FP, Mancini FP, Postiglione A, Witztum JL, Palumbo G, et al. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J Clin Invest*. 1997 Dec 1;100:2680-90

- 65.- Napoli C, Witztum JL, Calara F, de Nigris F, Palinski W. Maternal hypercholesterolemia enhances atherogenesis in normocholesterolemic rabbits, which is inhibited by antioxidant or lipid-lowering intervention during pregnancy: An experimental model of atherogenic mechanisms in human fetuses. *Circ Res*. 2000 Nov 10;87:946-52.
- 66.- Palinski W. Effect of maternal cardiovascular conditions and risk factors on offspring cardiovascular disease. *Circulation*. 2014 May 20;129:2066-77
- 67.- McGill HC, Jr, McMahan CA, Gidding SS. Preventing heart disease in the 21st century: Implications of the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) study. *Circulation*. 2008 Mar 4;117:1216-27.
- 68.- Strong JP, Malcom GT, Oalman MC. Environmental and genetic risk factors in early human atherogenesis: Lessons from the PDAY study. *Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth*. *Pathol Int*. 1995 Jun;45:403-8
- 69.- McGill HC, Jr, McMahan CA, Malcom GT, Oalman MC, Strong JP. Effects of serum lipoproteins and smoking on atherosclerosis in young men and women. The PDAY research group. *Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Jan;17:95-106.
- 70.- McMahan CA, McGill HC, Gidding SS, Malcom GT, Newman WP, Tracy RE, et al. PDAY risk score predicts advanced coronary artery atherosclerosis in middle-aged persons as well as youth. *Atherosclerosis*. 2007 Feb;190:370-7

71.- Mortality in treated heterozygous familial hypercholesterolaemia: Implications for clinical management. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. *Atherosclerosis*. 1999 Jan;142:105-12.

72.- Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Jr, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2006 Mar 23;354:1264-72.

73.- Kathiresan S, Melander O, Guiducci C, Surti A, Burt NP, Rieder MJ, et al. Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans. *Nat Genet*. 2008 Feb;40:189-9

74.- MD DPW. Is Atherosclerosis a Pediatric Disease. [Updated 2016 Aug 10]. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-2017.

75.- Dixon DB. Non-Invasive Imaging in Pediatric Atherosclerosis. [Updated 2016 Sep 27]. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-2017.

76.- Doyon A, Kracht D, Melk A, Schaefer F, Wuhl E. Carotid artery intima-media thickness and distensibility in children and adolescents. Reference values and role of body dimensions. *Hypertension*. 2013;62: 550-556.

- 77.- Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular. Journal of the American Society of Echocardiography. 2008;21: 93-11
- 78.- Wiegman A, Hutten BA, de Groot E, et al. Efficacy and safety of statin therapy in children with familial hypercholesterolemia: a randomized controlled trial. JAMA 2004; 292:331.
- 79.- Rodenburg J, Vissers MN, Wiegman A, et al. Statin treatment in children with familial hypercholesterolemia: the younger, the better. Circulation 2007; 116:664.
- 80.- Kusters DM, Avis HJ, de Groot E, et al. Ten-year follow-up after initiation of statin therapy in children with familial hypercholesterolemia. JAMA 2014; 312:1055.
- 81.- de Jongh S, Lilien MR, op't Roodt J, et al. Early statin therapy restores endothelial function in children with familial hypercholesterolemia. J Am Coll Cardiol 2002; 40:2117.
- 82.- Farquhar JW, Smith RE, Dempsey ME. The effect of beta sitosterol on the serum lipids of young men with arteriosclerotic heart disease. Circulation 1956;14:77e82.
- 83.- Ras RT, Geleijnse JM, Trautwein EA. LDL-cholesterol-lowering effect of plant sterols and stanols across different dose ranges: a meta-analysis of randomised controlled studies. British Journal of Nutrition (2014), 112, 214–219.

84.- Cusack LK, Fernandez ML, Volek JS. The Food Matrix and Sterol Characteristics Affect the Plasma Cholesterol Lowering of Phytosterol/Phytostanol. *Adv. Nutr.* 4: 633–643, 2013.

85.- Mussner MJ, Parhofer KG, Von Bergmann K, Schwandt P, Broedl U, Otto C. Effects of phytosterol ester-enriched margarine on plasma lipoproteins in mild to moderate hypercholesterolemia are related to basal cholesterol and fat intake. *Metabolism.* 2002;51:189–94.

86.- Hendriks HF, Brink EJ, Meijer GW, Princen HM, Ntanios FY. Safety of long-term consumption of plant sterol esters-enriched spread. *Eur J Clin Nutr.* 2003;57:681–92.

87.- Saito S, Takeshita M, Tomonobu K, Kudo N, Shiiba D, Hase T, Tokimitsu I, Yasukawa T. Dose-dependent cholesterol-lowering effect of a mayonnaise-type product with a main component of diacylglycerolcontaining plant sterol esters. *Nutrition.* 2006;22:174–8.

88.- Plana N, Nicolle C, Ferre R, Camps J, Cos R, Villoria J, Masana L, DANACOL group. Plant sterol-enriched fermented milk enhances the attainment of LDL-cholesterol goal in hypercholesterolemic subjects. *Eur J Nutr.* 2008;47:32–9.

89. Hyun YJ, Kim OY, Kang JB, Lee JH, Jang Y, Liponkoski L, Salo P. Plant stanol esters in low-fat yogurt reduces total and low-density lipoprotein cholesterol and low-density lipoprotein oxidation in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic subjects. *Nutr Res.* 2005;25:743.

90. Mensink RP, Ebbing S, Lindhout M, Plat J, van Heugten MM. Effects of plant stanol esters supplied in low-fat yoghurt on serum lipids and lipoproteins, non-cholesterol sterols and fat soluble antioxidant concentrations. *Atherosclerosis*. 2002;160:205–13.
91. Niittynen LH, Jauhiainen TA, Poussa TA, Korpela R. Effects of yoghurt enriched with free plant sterols on the levels of serum lipids and plant sterols in moderately hypercholesterolaemic subjects on a high-fat diet. *Int J Food Sci Nutr*. 2008;59:357–67.
92. Doornbos AM, Meynen EM, Duchateau GS, van der Knaap HC, Trautwein EA. Intake occasion affects the serum cholesterol lowering of a plant sterol-enriched single-dose yoghurt drink in mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr*. 2006;60:325–33.
- 93.- Meguro S, Higashi K, Hase T, Honda Y, Otsuka A, Tokimitsu I, Itakura H. Solubilization of phytosterols in diacylglycerol versus triacylglycerol improves the serum cholesterol-lowering effect. *Eur J Clin Nutr*. 2001; 55:513–7.
- 94.- Parraga Martinez I, Lopez Torres Hidalgo JD, Del Campo JM, et al. Efecto a largo plazo de los estanoles vegetales en el perfil lipídico de pacientes con hipercolesterolemia. Ensayo clinico aleatorizado. *Rev Esp Cardiol*. 2015;68(8):665–671.
- 95.- Korpela R, Tuomilehto J, Hogstrom P, Seppo L, Piironen V, SaloVaananen P, Toivo J, Lamberg-Allardt C, Karkkainen M, Outila T, et al. Safety aspects and cholesterol-lowering efficacy of low fat dairy products containing plant sterols. *Eur J Clin Nutr*. 2006;60:633–42

96.- Bañuls C, Martinez-Triguero ML, Lopez Ruiz A, et al. Evaluation of cardiovascular risk and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic subjects on a standard healthy diet including low-fat milk enriched with plant sterols. *Journal of Nutritional Biochemistry* 21 (2010) 881–886.

97.- Petrogianni M, Grammatikaki E, Kalogeropoulos N, et al. Additional benefit in CVD risk indices derived from the consumption of fortified milk when combined with a lifestyle intervention. *Public Health Nutrition*: 17, 440–449.

98.- Hernández Mijares A, Bañuls C, Rocha M , et al. Effects of phytosterol ester-enriched low-fat milk on serum lipoprotein profile in mildly hypercholesterolaemic patients are not related to dietary cholesterol or saturated fat intake. *British Journal of Nutrition* 2010, 104, 1018–1025.

99.- Casas-Agustench P, Serra M, Pérez-Heras A, et al. Effects of plant sterol esters in skimmed milk and vegetable-fat-enriched milk on serum lipids and non-cholesterol sterols in hypercholesterolaemic subjects: a randomised, placebo-controlled, crossover study. *British Journal of Nutrition* 2012, 107, 1766–1775.

100.- Padro T , Vilahur G , Sanchez Hernández J, et al. Lipidomic changes of LDL in overweight and moderately hypercholesterolemic subjects taking phytosterol- and omega-3-supplemented milk. *J. Lipid Res.* 2015. 56: 1043–1056.

101.- Becker M, Staab D, von Bergmann K. Treatment of severe familial hypercholesterolemia in childhood with sitosterol and sitostanol. *J Pediatr* 1993;122:292e6.

- 102.- Garoufi A, et al. Plant sterols-enriched diet decreases small, dense LDL-cholesterol levels in children with hypercholesterolemia: a prospective study. *Ital J Pediatr.* 2014; 40:42
- 103.- Lea L.J., and Hepburn P.A.: Safety evaluation of phytosterol-esters. Part 9: Results of a European post-launch monitoring programme. *Food Chem Toxicol* 2006; 44:1213-1222
- 104.- EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS) : Scientific opinion on the safety of stigmasterol-rich plant sterols as food additive. *EFSA J* 2012; 10: 2659
- 105.- Noakes M, Clifton P, Ntanos F, Shrapnel W, Record I, McInerney J. An increase in dietary carotenoids when consuming plant sterols or stanols is effective in maintaining plasma carotenoid concentrations. *Am J Clin Nutr* 2002;75:79e86.
- 106.- Tuomilehto J, Tikkanen MJ, Högström P, et al. Safety assessment of common foods enriched with natural nonesterified plant sterols. *Eur J Clin Nutr* 2009;63:684e91.
- 107.- Woyengo TA, Ramprasath VR, Jones PJ. Anticancer effects of phytosterols. *Eur J Clin Nutr* 2009;63:813e20.
- 108.- de Castro-Oros I, Pampin S, Cofan M, et al. Promoter variant -204A>C of the cholesterol 7 α -hydroxylase gene: Association with response to plant sterols in humans and increased transcriptional activity in transfected HepG2 cells. *Clin Nutr.* 2011;30: 239-46.

- 109.- Lottenberg AM, Nunes VS, Nakandakare ER, et al. The human cholesteryl ester transfer protein I405V polymorphism is associated with plasma cholesterol concentration and its reduction by dietary phytosterol esters. *J Nutr.* 2003;133:1800-5.
- 110.- Zhao HL, Houweling AH, Vanstone CA, et al. Genetic variation in ABC G5/G8 and NPC1L1 impact cholesterol response to plant sterol in hypercholesterolemic men. *Lipids* 2008; 43:1155-64.
- 111.- Sanchez-Muñiz FJ, Maki KC, Scafer EJ, Ordovas JM. Serum lipid and antioxidant responses in hypercholesterolemic men and women receiving plant sterol esters vary by apolipoprotein E genotype. *J Nutr.* 2009; 139:13-9.
- 112.- MacKay DS, Eck PK, Gebauer SK, et al. CYP7A1-rs3808607 and APOE isoform associate with LDL cholesterol lowering after plant sterol consumption in a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2015; 102: 951-7.
- 113.- Mackay DS, Eck PK, Rideout TC, Baer DJ, Jones P. Cholesterol ester transfer protein polymorphism rs5882 is associated with triglyceride-lowering in response to plant sterol consumption. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 2015, 40:846-849.
- 114.- San Mauro-Martín I, De la Calle-de la Rosa L ,Sanz-Rojo S ,Et al. Genomic approach to cardiovascular disease. *Nutr Hosp.* 2016; 33:148-155.

